

THE HITACHI SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS

 SPRING 1981
VOL. 24 NO. 1

目次

報 文

 H-700H形日立200kV分析電顕トータルシステムによる微小部分分析
 ……北村雅夫 森本信男 …… 1

 走査透過電子顕微鏡による糸状菌
 フォスファターゼ分布の細胞化
 学的検討 ……
 ……若尾紀夫 米原勝久 …… 5

 銅(II)ジアミン錯体のサーモクロ
 ミズム ……八巻さゆり 福田 豊 …… 9

 パーティカルロータによる大腸菌
 細胞外膜と内膜の分離・調製 ……
 ……奥田慎一 …… 13

解 説

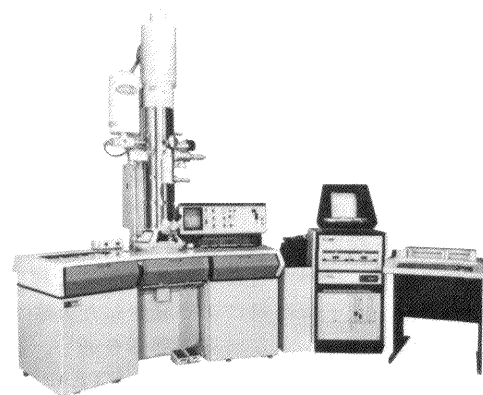
 M-003形 日立質量分析計データ処
 理装置 ……
 加藤義昭 高橋貞夫 小室文男
 ……武田隆三郎 仁平則子 …… 15

 日立縮小投影露光装置RA-101シス
 テム ……
 仙石正行 井上 克 栗本宏三 …… 20

報 文

U.D.C. 543.423.8.087.9:621.385.833.28:681.323-181.4

H-700H形日立200kV分析電顕トータルシステム による微小部分分析

 北村 雅夫^{*} 森本 信男^{**}


H-700H形日立電子顕微鏡トータルシステム

1. はじめに

最近の透過形電子顕微鏡(TEM)の発達により、複雑な微細組織の研究が盛んに行なわれるようになっていく。しかし、転位などの欠陥構造の研究や格子像法による超構造などの研究に比べると、析出物などによる化学的不均一性についての研究はまだ少ない。そのためには、微小領域の化学分析がきわめて必要である。

現在、微小領域の分析のために、X線マイクロプローブ(EPMA)が広く使用されているが、この方法では数 μm 以下の領域についての分析はできない。この大きさはTEMで観察する領域にとりてはあまりにも大きすぎ、もっと小さな領域についての分析が望ましい。

TEMで観察できる領域の分析を行なうために、1960年代にTEMにX線検出器を組み込み、TEMとして利用する以外に、極微小領域の化学分析を行なう試みがDuncumb¹⁾により初めて行なわれた。その装置では透過電子像を得るための電子線をプローブとして発生する特性X線の強度を測定した。その後、このような装置の改良や応用は、イギリスを中心として行なわれ、商品として市販されるようになった(例えばEMMA: Electron Microscope Microprobe Analyser)。

我国ではやや遅れて、1970年代になってからこの種の装置の開発が100kV TEMについて盛んに行なわれた。ごく最近では、200kV TEMの改良と安定性の向上により、初の試みとして200kVでの分析電顕(ここではAEM: Analytical Transmission Electron Microscopeと呼ぶ)トータルシステムが開発されるようになった。本稿では、従来の100kV AEMと、200 kVAEMとの比較などを含めて、その特徴や使用例の一端を紹介する。

2. 装置の構成と機能

装置の構成は、透過形電子顕微鏡が日立製200kV H-700H高分解能電子顕微鏡、

^{*} 京都大学理学部地質学鉱物学教室 助手・理学博士

^{**} 京都大学理学部地質学鉱物学教室 教授・理学博士

走査透過電子像装置、Kevex社製のエネルギー分散形X線分光器(SSD)、PDP11ミニコンピュータなどである。

このような構成は、分析電顕トータルシステム(AEM Total System)と呼ばれるものであり、機能の概念図を図1

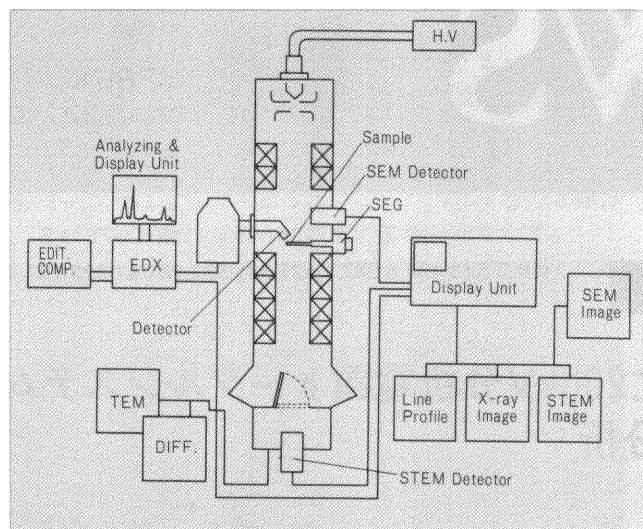


図1 H-700H日立分析電顕トータルシステムの概念図

に示す。

高圧部で発生した電子線をサイドエントリーゴニオメータに保持されている試料に照射し、蛍光板上で通常のTEMとしての試料観察を行なう。透過電子線を蛍光板の下方にあるDetectorで受け、ディスプレイユニットでブラウン管上に走査像を映像化させることができる(STEM)。分析領域の大きさなどは、点分析、線分析、面分析のモードの選択で決まる。試料から発生する二次電子線の像の観察も可能である。電子線照射により発生したX線は、SSDで検出し、マルチチャンネル波高選別器を通し、各チャンネル毎にブラウン管上に映し出させる。STEM像を見ながら分析できるため、実効的分析領域を小さくすることなどのために、X線取り出し角(Take off angle)が直角に近いことが望ましいが、本装置では、68度と他社製品にくらべて大きな角度になっていることが一つの特長になっている。また、とくに200kV AEMのために、SSDへのノイズの原因の一つである対物レンズより上部の鏡筒内で発生するX線をしゃへいするための工夫もいろいろなされている。

データ処理の過程では、ミニコンピュータにより、バックグラウンド除去、積分強度の計算、定量補正計算などを行なって結果をプリンタで打ち出す。そのためのプログラムも完全ではないがそろっている。また、フロッピーディスクに、各分析データを記憶させることができ、化学組成の比較などに有用なものとなっているうえに、同一実験条件において多数のデータをとっておけることも有利な点である。

3. 分析領域の大きさ

TEMでの微細組織の研究にとって分析領域を小さくすることは重要かつ不可欠のものである。EPMAよりAEMの方が分析領域が小さくなる理由は、図2に示したように簡単に理解できる。

光学顕微鏡用の試料では、厚さは約30 μm であるので、電

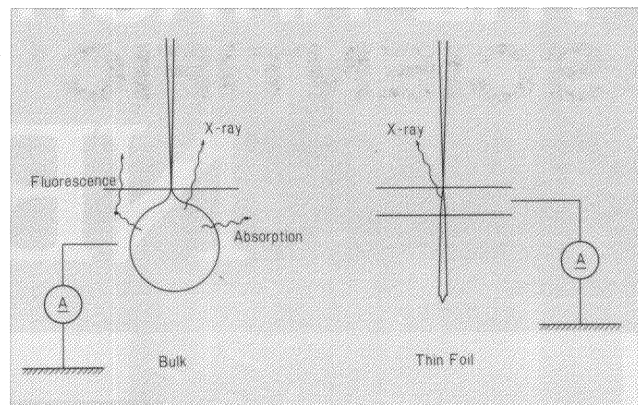


図2 膜厚の違いによるX線発生領域の大きさ。Bulk試料では、原子番号効果以外に吸収、蛍光の補正が必要であるが薄膜では必要ない。

子線が透過してしまうには厚すぎるが、他方、TEM用の薄膜はほとんどの電子線が透過することができる厚さである。このため、試料表面でのプローブ径が同じでも、膜厚が厚い場合には、電子の試料内での横方向の拡散により、実際にX線の発生する領域の大きさは数 μm に達する。他方、薄膜の場合、このような電子の拡散はほとんどなく、実際の分析領域は数百オングストロームになる。

このように分析領域はプローブの大きさ、膜厚により変化するが、分析領域を小さくするために、プローブを細くして極めて薄い場所を分析すると、発生するX線量が小さく、分析の精度に大きな誤差を与える。それ故、我々の研究室では、その両方の要請を満たすoptimalな条件を用いており、その場合の分析領域は500 $\text{\AA}$ 程度である。

4. 試料の作製法

AEM用の試料作製法は通常のTEM用の試料作製法と同じであり、粉末や電解研磨、イオン研磨片を作製し、観察や分析を行なう。微細組織の全体像を把握するためには、光学顕微鏡やEPMAでの分析で研究される μm オーダーからTEMでみられるオーダーへの連続的な対応の必要がある。そのためには、粉末を用いる方法では都合が悪く、電解研磨やイオン研磨法を用いる。とくに、通常の鉱物は、金属などの場合と異なって電解研磨できないため、イオン研磨法に頼らざるを得ない。

イオン研磨法の概略を図3に示す。光学顕微鏡用の薄片(厚さ30 μm 程度)を単孔メッシュではさみ、真空中で角度約

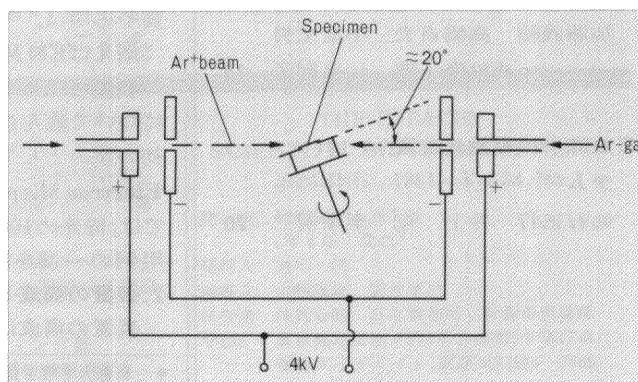


図3 イオン研磨法の概念図

20度でイオン化したアルゴンビームを両側から吹きつけることで研磨する。この装置は多くの会社から市販されているが、我々の研究室では、エドワーズ社製の装置を用いている。通常の輝石やかんらん石のような珪酸塩鉱物であれば、光学顕微鏡用の薄片から出発して、10時間程度で小さな孔があくので、その周辺をTEM、AEMで研究できる。(なお、イオン研磨法の詳細は、たとえば延谷・床次²⁾を参照されたい。)

5. 分析の定量化

分析領域の項で述べたように、薄膜では電子線は固体内で拡散する領域が少なく、X線の吸収や蛍光による影響が無視できる領域がある。このような領域では、任意の二つの元素について発生する特性X線の強度比 I_i/I_j は試料の厚さに無関係であり、モル当りの原子数比 C_i/C_j と比例関係にある(Cliff and Lorimer³⁾)。即ち、

$$C_i/C_j = K_{ij} \cdot I_i/I_j \dots \dots \dots (1)$$

であり、 K_{ij} は比例定数である。この値は、使用する装置や実験条件によって決まるものであり、標準試料を用いてあらかじめ求めておくことにより定量分析が可能となる。化学組成は $\sum C_i = 1$ として求めるか、あるいは酸化物などの場合には $\sum \text{oxide wt}\% = 100$ として求める。分析精度の評価に、このようにして求めた組成の定比組成からのずれを考慮する必要がある。

上部の直線則((1)式)が成立していることを実験的に示すのが図4である。各元素から $K\alpha$ 線の強度だけを用いて比較を行ない、膜厚に対応するものとしてすべての元素の $K\alpha$ 線の強度の和をとることとする。この図では、標準試料(南アフリカ産ガーネット)からの $K\alpha$ 線の強度の総和を横軸にとり、各元素の強度を縦軸にプロットしたものである。膜厚の薄い所で十分に(1)式の直線則が成立していることがよくわかる。なお、この直線則からのずれは、膜厚が $1.2 \mu\text{m}$ 程度の所から顕著になるが、明視野像が観察できる領域では直線則が十分に成り立っていると言える。

次に、我々の研究室で用いている200kVトータルシステムで求めたSiに対する各元素のK値： $K_j = (I_{Si}/I_j)/(C_{Si}/C_j)$ を図5に示す。この図の意味することは、1個のSi原子からの強度と等しい強度を得るには、例えばFeの場合には、ほぼ0.5個の原子でよいということである。原子番号の増加に伴いK値が増加するのは、原子番号による効果である。原子番号の小さい領域でK値の急激な上昇がみられるが、これは主にSSDのwindowによる吸収のためである。本トータルシステムを用いて100kVについて同様のK値の図を求めると、K値の最小値などの傾向は200kVの場合とほぼ同じであり、この特徴は加速電圧によりむしろ装置に強く依存していると言える。

さらに、本トータルシステムにあるSEM、STEMそしてSpot Scanの特徴を生かすためにもさらに膜厚の大きい所まで分析を定量化することが望ましい。このためには、吸収補正等を必要とする。薄膜の場合には試料電流が照射時間と共に変化するため一定にすることができないので、通常のZAF法などを用いることができない。図5に見られるように、直線性からのずれは一般にそれほど小さくなく、

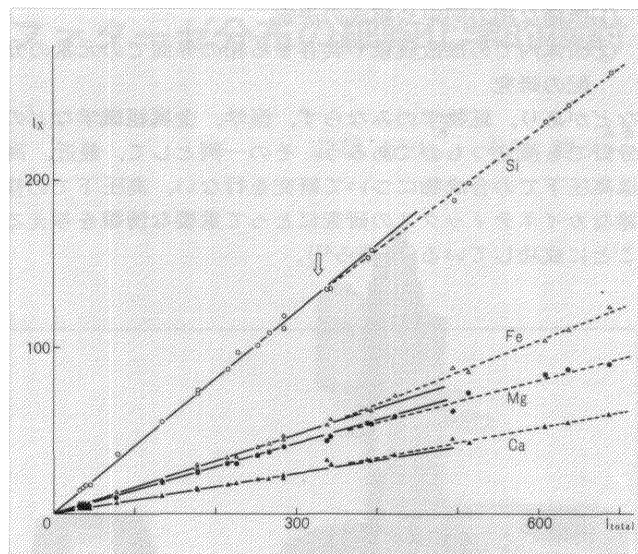


図4 各元素の特性X線強度とトータルカウントの比較。用いた試料は南アフリカ産ガーネット(東北大学・青木謙一郎氏による)で、簡単化のために、Si、Fe、Mg、Caについてのみ比較した。直線性は矢印で示した所まで認められる。

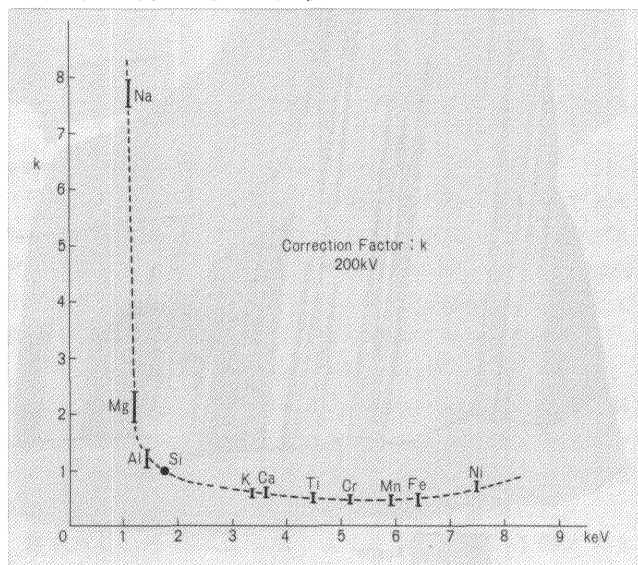


図5 $K_i = (C_i/C_{Si})(I_{Si}/I_i)$ で定義される各元素のSiに対するK値。最小値はMn-Feの所にくる。

その系統的なずれは計測誤差の範囲を大きく越えることはない。それで現在、膜厚の変化によるK値の変化を I_{Si} について多項式近似した後用いる方法を採用している。

この方法を輝石の離溶組織図6(a)の研究に応用した例について述べると、図6(b)に示すようにほぼ2%前後の誤差内に入ることが確認できた。このような膜厚の大きい所まで定量化を行なうことは、試料の膜厚を広い領域にわたって薄く出来にくいもの、例えば、結晶の集合体など、の研究にとって200kV電顕による透過率の増加と共に極めて有用なものである。

6. 応用分野と今後の問題点

微小部での定量分析が可能となったこと、さらに試料作製法の改良などに伴い、今後多くの分野でのAEMの応用が考えられるが、特にこの方法が有用なものとしては、

①微細な相の同定や組成の決定

②固体内での拡散現象や共存する相の界面での元素の分配の研究

などがあり、鉱物学のみならず、医学、金属組織学などの分野でも役立つものであろう。その一例として、最近、高温高压下での合成物について研究を行ない、高压下での複雑なカインエティックスの研究にとって重要な情報を与えることに成功している(川崎ら⁴⁾)。

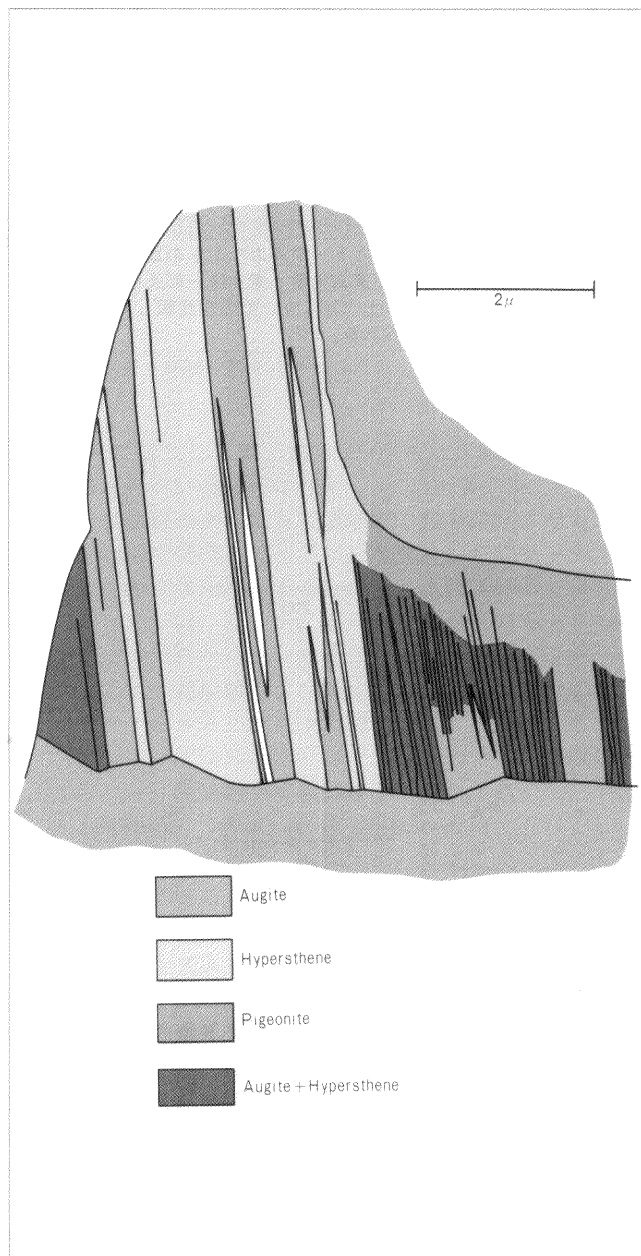


図6(a) イオン研磨した輝石の分析例

母相(Augite)中に複雑な離溶組織が見られる。

(a)150点の分析から得た組成のマッピング。全体がほぼ、EPMAの一つの分析点の大きさに対応する。

(b) MgSiO_3 :En, FeSiO_3 :Fs, CaSiO_3 :Wo, の三成分系にプロットした各点の組成。中間領域にある分析値は二相境界領域のものである。

一方、問題点としては、

①S/N比の向上

②SSDの改良、即ち室温で安定なものの開発

③膜厚の厚い所でのより厳密な定量法の確立

などが挙げられ、今後が期待される。

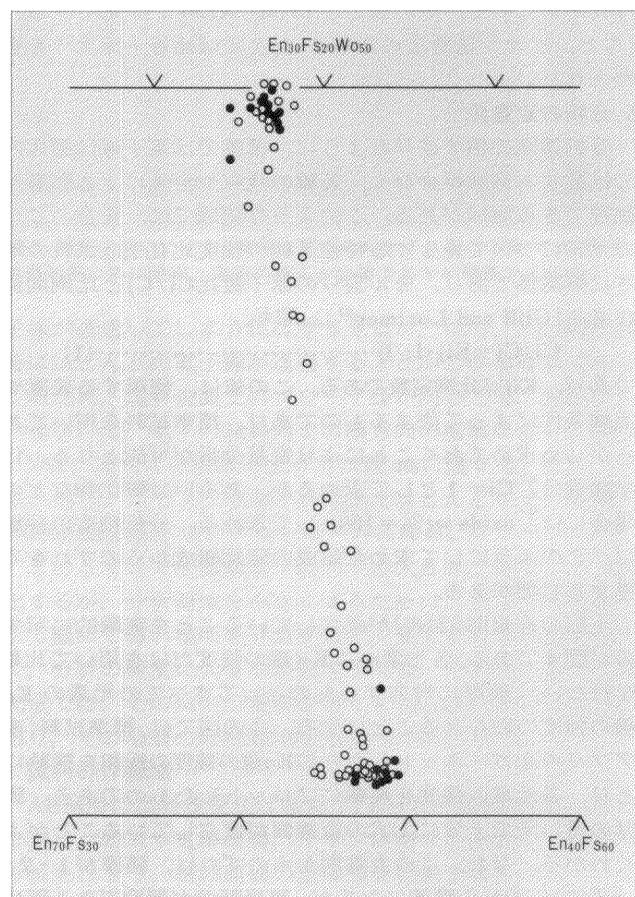


図6(b) イオン研磨した輝石の分析例

■参考文献

- 1) Duncumb, P; Proc. 5 th Int. Congress on Electron Microscopy. New York: Academic Press P.KK 4 (1962)
- 2) 延谷宏治・床次正安 ;日本結晶学会誌20,179 (1978)
- 3) Cliff, G. and Lorimer, G.W ;Proc. Eur. Congr. Electron Microsc, 5 th. 140 (1972)
- 4) 川崎智祐・北村雅夫・森本信男 ;日本鉱物学会年會要旨集 (1980)

走査透過電子顕微鏡による糸状菌フォスファターゼ分布の細胞化学的検討

若尾 紀夫* 米原 勝久**

1. 諸 言

近年、走査電子顕微鏡あるいは走査透過電子顕微鏡（以下走査電顕、走査透過電顕と省略）にX線検出器を備えた装置が、医学、生物学領域において活発に利用されるようになり、動物^{1,2)}植物³⁻⁵⁾微生物^{6,7)}を含めた生物試料内の種々な元素（特に重金属元素）の検出や分布状態の解明が可能になった。特に走査透過電顕にX線検出器を併用することにより、組織や細胞内の超微細構造とその場所における特定元素の分布状態とを明確に関連づけて観察できるようになった。

従来の酵素組織化学においては酵素反応の結果生じた電子密度の高い重金属含有沈着物を、通常の透過電子顕微鏡（以下透過電顕と省略）で観察したが、この分野においてもX線検出器を着装した走査電顕および走査透過電顕での応用が試みられ、生物試料内における酵素反応生成物の化学的組成やその微視的分布の研究がおこなわれるようになった⁸⁻¹⁰⁾。

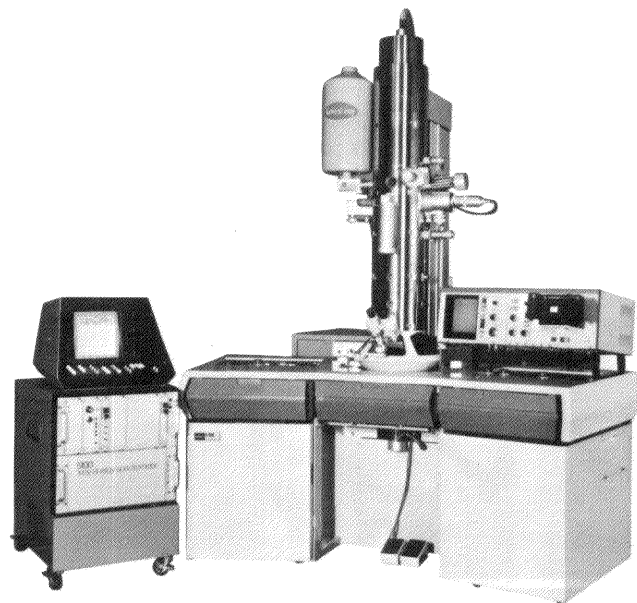
糸状菌 *Aspergillus oryzae* のフォスファターゼは多型性を示し、少なくとも活性至適pHの異なる2つの酸性フォスファターゼ（至適pH4.0と5.5）と、1つのアルカリ性フォスファターゼ（至適pH9.5）の存在が認められる¹¹⁻¹³⁾。このような多型性を示すフォスファターゼは酵素蛋白質として分画でき、至適pHは勿論、阻害剤および賦活剤に対する態度、基質特異性など種々な生化学的性質によって判別できる。至適pH4.0の酸性フォスファターゼ（以下酸性フォスファターゼIと省略）はNaF(0.01M)の存在で完全に失活するが、至適pH5.5の酸性フォスファターゼ（以下酸性フォスファターゼIIと省略）はNaFでほとんど失活しない。

著者はこれら3種のフォスファターゼの糸状菌細胞内での存在部位を、至適pHおよびNaFに対する態度の相違に基づいて透過電顕で細胞化学的に識別できることを既に明らかにした¹³⁾。

本報告では、これらフォスファターゼの糸状菌細胞内における細胞化学的分布を走査透過電顕にエネルギー分散形X線分析装置を併用して観察し、細胞の微細構造およびGomoriの鉛塩法¹⁴⁾により生じた反応生成物と鉛の分布像とを対比検討した。

2. 材料と方法

本研究室で保存している *Aspergillus oryzae* A 1-5 株を供試し、glucose-peptone 液体培地で培養した。その培地組成は、glucose 50g, polypeptone 20g, KH₂PO₄ 1g, MgSO₄·7H₂O 0.5g, CaCl₂·2H₂O 0.1g, 水道水1ℓ, pH5.5 からのなる。この液体培地50mlを500ml容平底フラスコに分注し、120℃、15分間加圧殺菌後、本菌株の分生胞子を3白金耳接種して30℃で3日間振とう培養した。



H-500H形日立電子顕微鏡トータルシステム

培養した糸状菌々は遠心分離操作で集め、冷水でよく洗浄後、2%グルタルアルデヒド固定液(0.1Mカコジル酸緩衝液, pH7.2)を用いて、酸性フォスファターゼでは60分間、アルカリ性フォスファターゼでは15分間、1~4℃で前固定した。固定後は同じ緩衝液でよく洗浄した。

前固定菌体はβ-グリセロリン酸(β-GP)を基質として、酸性フォスファターゼはBarkaとAndersonの反応液¹⁵⁾(pH4.0およびpH5.5+0.01MNaF)で、アルカリ性フォスファターゼはMayaharaの反応液¹⁶⁾(pH9.5)で、30℃60分間酵素反応させた。対照区は基質無添加反応液を使用した。

酵素反応した菌体は冷水でよく洗浄した後、1%オスミウム酸(0.1Mカコジル酸緩衝液, pH7.2)で、1~4℃、2時間後固定した。脱水は50%、70%、95%、100%エタノール、最後にプロピレンオキシドでおこない、Epon812¹⁷⁾で包埋固化後、Porter-Blum MT-1形ミクロトームにより超薄切片(0.3μm)を作製した。薄切片は電子染色を施さず、KEVEX 5100形エネルギー分散形X線分析装置を着装したH-500H形日立電子顕微鏡トータルシステムで観察し、写真撮影した。測定条件は、加速電圧75kV、試料電流2×10⁻⁹A(Cuメッシュ)、試料面の電子プローブ径800~900Å、測定時間30秒とした。PbのX線面分析にはPb-M線を用い、細胞内におけるPbの分布状態(以下Pb-X線像とする)を観察した。

3. 結果と考察

走査透過電顕像とそれに対応するPb-X線像を、それぞれ図1(a)~図5(a)および図1(b)~図5(b)に示した。図1(a)および図1(b)は基質を添加しないで反応させた糸状菌細胞の走査透過電顕像およびそれに対応するPb-X線像であるが、細胞内には反応生成物は認められない。

* 岩手大学 農学部 農芸化学科

** 日立製作所 那珂工場 応用技術センタ

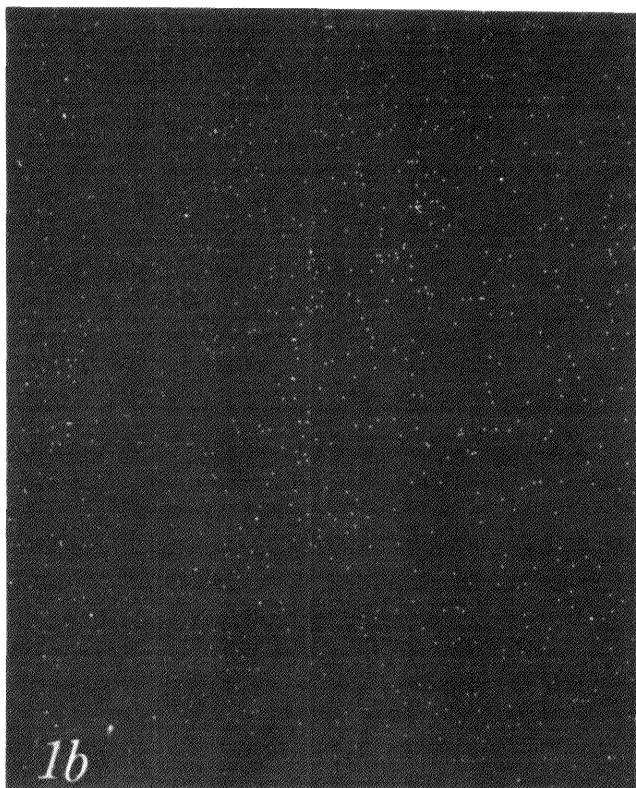


図1 (a)基質(β -GP)無添加反応液で処理した対照細胞の走査透過電顕像
(b)図1 (a)のPb-X線像

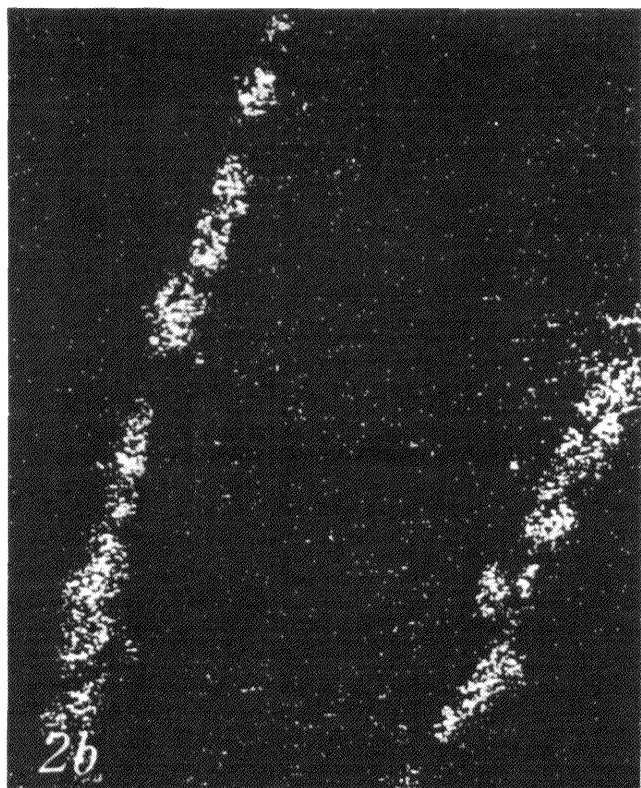


図2 (a)pH4.0(酸性フォスファターゼI)で反応させた細胞の走査透過電顕像
(b)図2 (a)のPb-X線像

糸状菌細胞をpH4.0で反応させると酸性フォスファターゼIによる高電子密度の反応生成物が、細胞壁表層(図2(a))に多量に認められたが、pH5.5(NaF添加)で反応させ

た細胞の酸性フォスファターゼIIの反応生成物は細胞壁表層と細胞質膜(図3(a))に検出された。両酸性フォスファターゼの反応生成物は細胞質内では観察されない。このよう

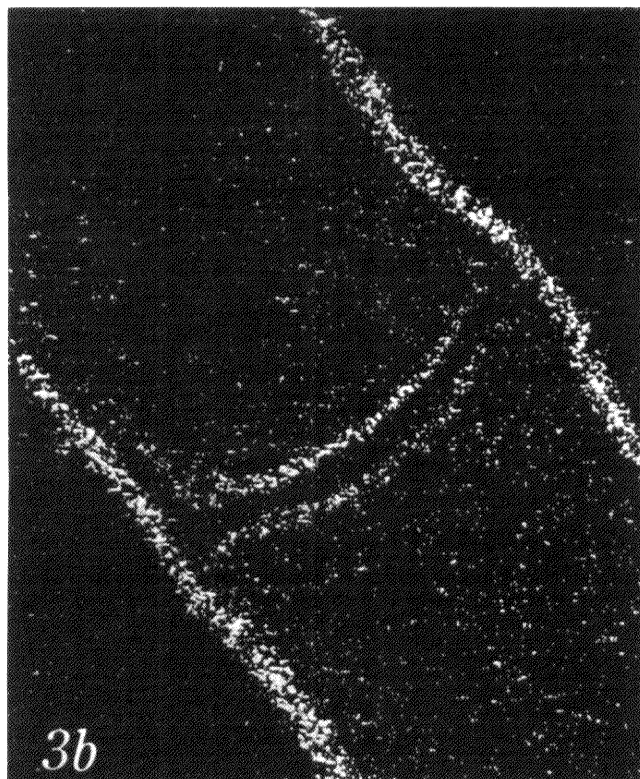
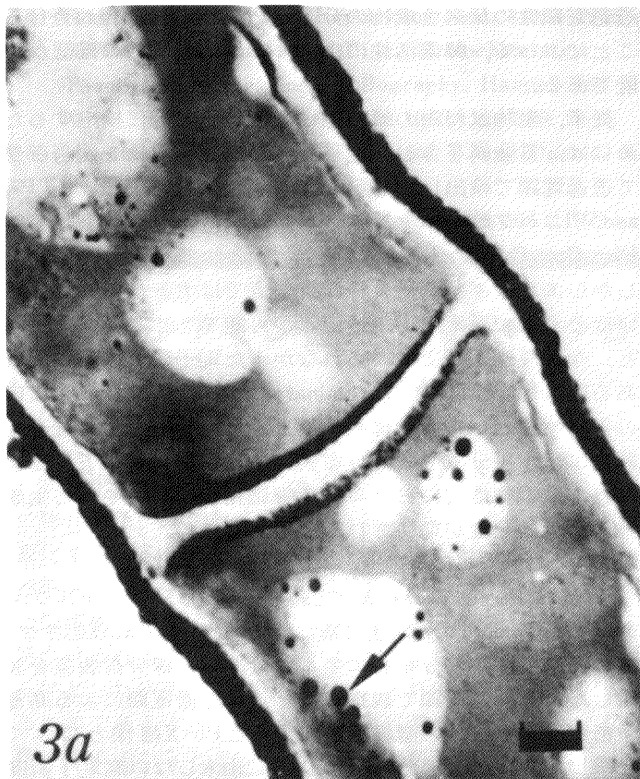


図 3 (a) pH5.5+NaF(酸性フォスファターゼ II) で反応させた細胞の走査透過電顕像
(b) 図 3 (a) の Pb-X 線像

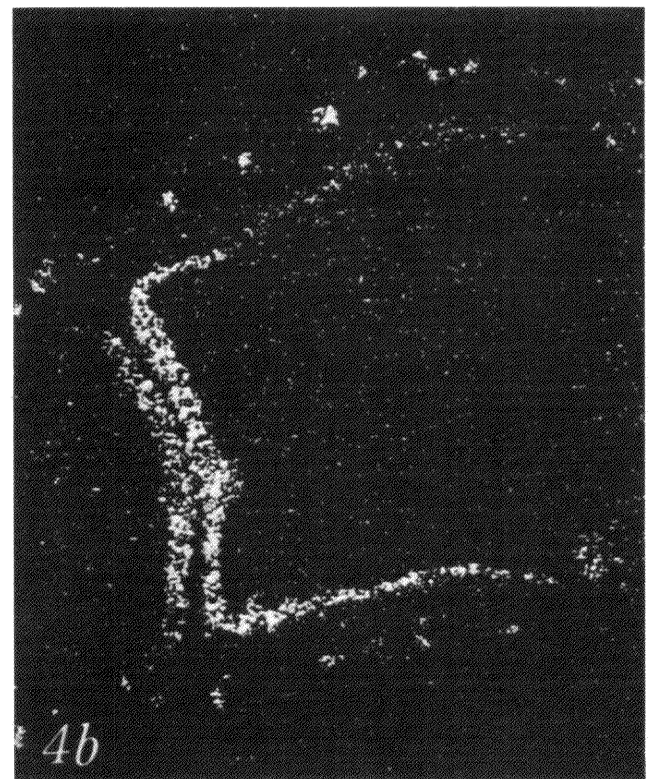
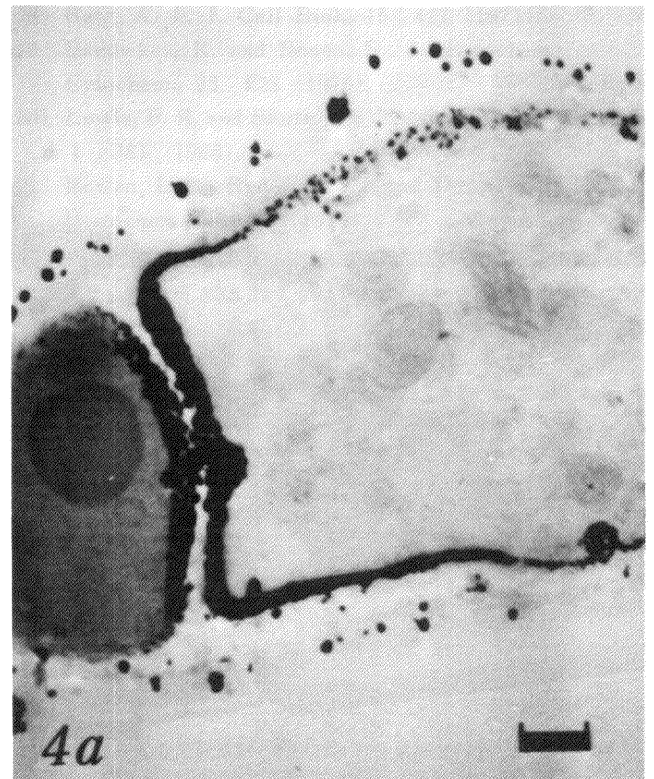
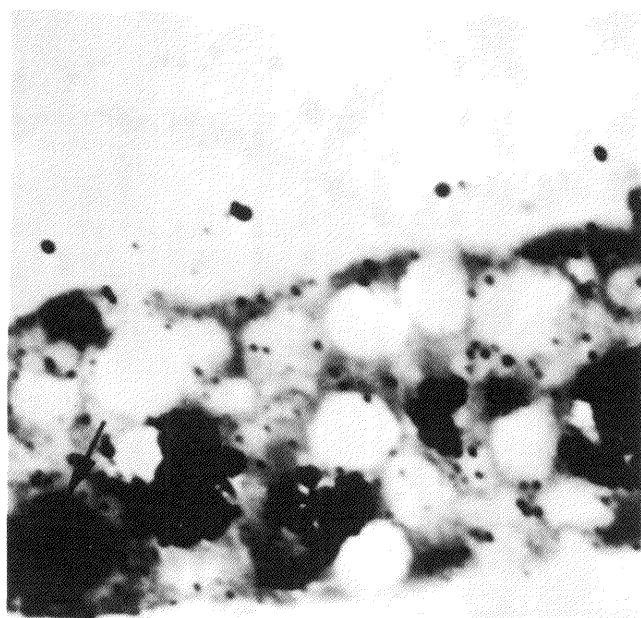


図 4 (a) pH9.5(アルカリ性フォスファターゼ) で反応させた細胞の走査透過電顕像
(b) 図 4 (a) の Pb-X 線像

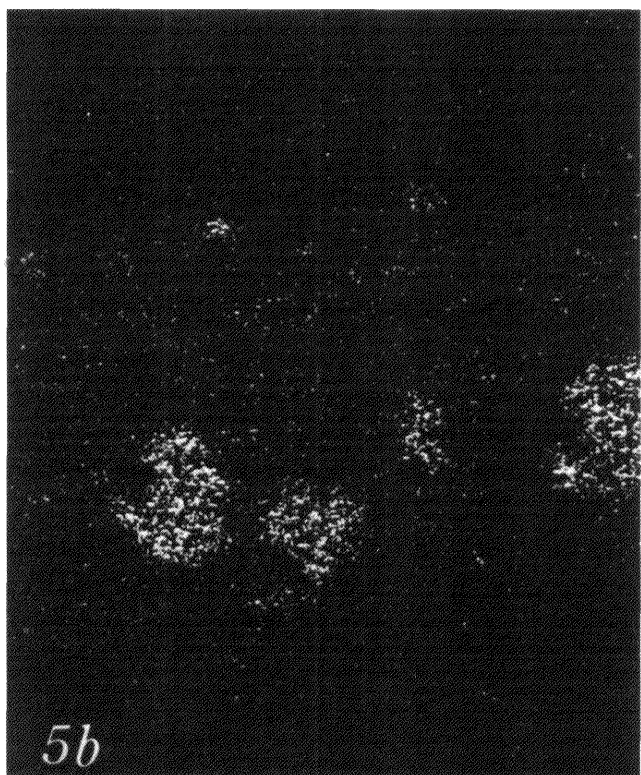
な反応生成物の分布は Pb-X 線像(図 2 (b), 3 (b)) とよく一致した。図 1 (a), 3 (a) に観察される高電子密度の沈着物(矢印)は Pb を含まない汚染であることは、Pb-X 線像から

明らかである。

アルカリ性フォスファターゼによる高電子密度反応生成物は細胞壁表層と細胞質膜(図 4 (a))に、更に細胞質内(図



5a



5b

図5(a)pH9.5(アルカリ性フォスファターゼ)で反応させた細胞の走査透過電顕像

(b)図5(a)のPb-X線像

5(a)にも検出され、その分布状態はPb-X線像とよく一致した。しかし走査透過電顕像(図5(a))にみられる高電子密度顆粒(矢印)は、酵素活性に由来したPbの沈着物ではないことがPb-X線像との対比で判別できる。以上のように走査

透過電顕像の反応生成物の分布とPb-X線像とを重ね合わせることによって、酵素活性に由来する反応生成物の確認が可能である。

従来、生物試料内の酵素活性を細胞化学的に検出するためには、重金属を含む高電子密度の反応生成物を沈着させて透過電顕で検出した。例えばフォスファターゼ^{9,18)}ATP-ase^{8,19)}コハク酸脱水素酵素¹⁰⁾コリンエステラーゼ²⁰⁾等では、Pb, Co, Cu, Fe, Ca等が指標元素として用いられている。しかしエネルギー分散形X線分析装置ではナトリウムより重いほとんどの元素の同定や定量が可能であることを考えると、今後透過電顕で用いられなかった電子密度の低い元素あるいは化合物(例えばbrominated azo dye²¹⁾)が酵素反応の指標物質として有効に利用できよう。従って走査透過電顕とエネルギー分散形X線分布装置との併用によって、生物試料の微細構造内における酵素細胞化学的反応や反応生成物の解析の発展が期待されるところと考えられる。

4.要 約

*Aspergillus oryzae*の酸性およびアルカリ性フォスファターゼをGomoriの鉛塩法に基づいて細胞化学的に反応させ、その反応生成物の分布をエネルギー分散形X線分析装置を装着した走査透過電顕で観察した。走査透過電顕による高電子密度反応生成物の微細構造内分布とPb-X線像とはよく一致した。またX線分析によりPbに由来しない高電子密度の顆粒を識別できた。その結果酸性およびアルカリ性フォスファターゼによるPbの反応生成物は、この糸状菌の細胞壁表層と細胞質膜に、更に後者は細胞質内にも認められた。

最後に、本研究にご援助いただいた岩手大学電子顕微鏡教室の谷村一郎氏に感謝申し上げます。

■参考文献

- 1) Tousimis, A. J. and Adler, L., J. Histochem. Cytochem., 11 : 40 (1963).
- 2) Robison, W.L. and Davis, B., J. Cell Biol., 43 : 115 (1969).
- 3) Ramati, A., Eshel, A., Liphshitz, N. and Waisel, Y., Experimentia, 29 : 497 (1973).
- 4) Yamada, Y., Bot. Mag. Tokyo, 86 : 229 (1973).
- 5) Tandler, C. J., Libanati, C. M. and Sanchis, C. A., J. Cell Biol., 45 : 355 (1970).
- 6) Scherrer, R. and Gerhardt, P., J. Bacteriol., 112 : 559 (1972).
- 7) Thibaut, M. and Ansel, M., J. Bacteriol., 116 : 1181 (1973).
- 8) Engel, W. K., Resnick, J. S. and Martin, E., J. Histochem. Cytochem., 16 : 273 (1968).
- 9) Ryder, T. A. and Bowen, I. D., J. Microscopy, 101:143 (1974).
- 10) Weavers, B. A., Histochem. J., 6 : 121 (1974).
- 11) Sakurai, Y. and Shiota, H., Abstr. Annu. Meet. Agri. Chem. Soc. Japan, 35 (1969).
- 12) Sakurai, Y. and Shiota, H., J. Gen. Appl. Microbiol., 16 : 335 (1970).
- 13) Wakao, N., Sakurai, Y., Shiota, H. and Tanimura, I., J. Gen. Appl. Microbiol., 21 : 233 (1975).

- 14) Gomori, G., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **42**:23(1939).
- 15) Barka, T. and Anderson, P. J., Histochemistry; Theory, Practice, and Bibliography, Harper and Row, Publ., Inc., New York, 1963, p. 240.
- 16) Mayahara, H., Hirano, H., Saito, T. and Ogawa, K., Histochemie, **11**: 88 (1967).
- 17) Kushida, H., J. Electron Microsc., **20**: 206 (1971).
- 18) Hale, A. J., J. Cell Biol., **15**: 427 (1971).
- 19) Beeuwkes, R. and Rosen, S., J. Histochem. Cytochem., **23**: 828 (1975).
- 20) Lewis, P. R. and Shute, C. C. D., J. Cell Science, **1**: 381 (1966).
- 21) Bowen, I. D., Ryder, T. A. and Downing, N. L., Histochem., **49**: 43 (1976).

U.D.C. 535.347.096:(547.415.1'13-386:546.562)

銅(II)ジアミン錯体のサーモクロミズム

八巻 さゆり* 福田 豊**

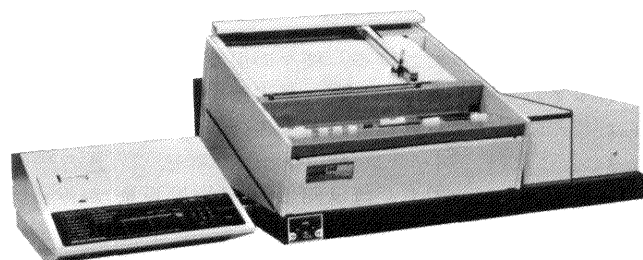
1. まえがき

物質の色が、加熱あるいは冷却によってさまざまの色に変化する現象を一般にサーモクロミズムと呼ぶ(特に可逆的色変化をさす場合が多い)¹⁾。この現象は、可視部吸収帯の温度依存性によるもので、しばしばスペクトル測定中に見うけられることもあるが、しかしこれを意識的に中心テーマとした研究例はあまりない。それは色の原因が何によるものであるのか、たとえばd-d吸収帯によるものか、CT帯であるのかなどといった発色機構が多様であり、必ずしもそのすべての場合に温度依存性を示すことはないからであろう。本報では、そのようなサーモクロミズムの例を、銅(II)ジアミン錯体で研究した結果(特に固体のサーモクロミズム)について報告する。

銅(II)イオンは、 d^9 電子配置を持ち、六配位化合物としては上下の配位子との結合距離ののびた、いわゆるテトラゴナル型のものが多いが²⁾平面型(極端に上下の配位子がのびきってしまったもの)から正八面体型のものまで、さまざまの程度にその構造は変りうる。これらの多様性の原因は、銅(II)イオン側にあつては、Jahn-Teller効果によるものであろうが、配位子からみると、軸方向および平面内の配位子の形と配位能に依存している。また、このようにして一度形成された銅(II)錯体の構造であっても、上述の如くさまざまの効果が、複雑にからみ合ったものであろうから、わずかの外界からの物理的变化(温度、圧力など)によって、その構造が変わることは予想される。一般に錯体の構造変化は、その電子状態を変えるためスペクトル変化は大きく、同一構造をもつものの間の変化(たとえば配位子場強度の変化など)よりずっと程度の大きいものである。このようなことから、銅(II)錯体でサーモクロミズムがしばしばみられそうであるが、現在のところ知られている例は多くない。

ここでのべる2つのサーモクロミズムの中で、[I]で示した例は早くから知られており³⁾その現象の説明について今までにも議論のあったものである。それらの結果について概観し、我々の研究室で行った実験結果について報告する。

2. ビス(N, N'-ジエチルエチレンジアミン)銅(II)過塩素酸塩, $[\text{Cu}(\text{unsym-deen})_2](\text{ClO}_4)_2$ [I], のサーモクロミズム



340形日立自記分光光度計(キーボード付属装置付)

この配位子(A)は、1つのN配位原子上に2個のエチル基を背負ったかさ高いもので(図1)、錯体中では軸方向をかなり遮蔽することになり、平面性の強い構造をとるだろうと予想される。事実、合成された化合物は、赤レンガ色であり、わずかの加熱により青紫色に変化する³⁾

(低温形) $\leftarrow 44^\circ\text{C} \rightarrow$ (高温形)

この錯体[I]の温度可変固体反射スペクトルを測定した(図2)。このスペクトル曲線のうち、 22.6°C および 48.6°C の2つの曲線は以前に報告されたもの(25°C と 50°C のデータがある)とほぼ一致した^{3-b)}図から明らかなように、高温になるにつれて長波長側に新たな吸収帯が現われてくる。これがサーモクロミズムの犯人であるが、この吸収帯の生じた原因を明らかにしなければならない。

1979年までのこのサーモクロミズムに対する一般的解釈は、以下のものであった。低温形では、N配位原子上のエチル基によって陰イオン(ClO_4^-)の銅(II)キレート平面への接近を妨げられている。一方、高温形では、温度の上昇によって分子運動が活発化し、錯体平面への上下からの陰イオンの相互作用は可能となるだろう。この結果、平面からテトラゴナルへの変化が、サーモクロミズムの原因と考えられていた。ただし、赤外線吸収スペクトルからは $\text{Cu}^{2+}-\text{ClO}_4^-$ の相互作用のあることは支持されていなかった。

1979年に発表されたGrentheらのX線構造解析の結果は、これらの疑問を解決した⁴⁾(図4および表1参照)この結果から明らかになったことは次のとおりである。

(1)それまで考えられていた金属- ClO_4^- の相互作用はない。この点では1Rの結果は正しかった訳で、むしろ $\text{Cu}^{2+}-\text{ClO}_4^-$ の距離は高温形の方が長い。

* 埼玉県工業試験所

** お茶の水女子大学理学部 化学教室・理博

(2)キレート環のコンホメーションをみると、高温形では金属とエチレンジアミンが作る五員環がほぼ同一平面を形成している。低温形ではそれに反して、エチレンジアミン部分がゴーシュ形になっている。

(3)Cu-N結合距離は、2つの形でそんなに差はない。

これらの事実をどう解釈するかという問題はまだ残されているが、現在の所、高温形ではエチレン部分のゴーシュ形コンホメーションが非常に早く反転しているため、エチレンジアミン環が平面的にみえるようになったのであろうと考えている⁵⁾ また、このことは、金属-配位子間結合を弱め(配位子場強度が減少する)、吸収極大値のred-shiftを引きおこす。一言でこのサーモクロミズムの機構を述べるとするならば、アキシアル相互作用でなく、コンホメーションの熱的変換によるエクアトリアル配位子場の変化といえよう。

図5に一定波長における、種々の温度での拡散反射率をプロットしたものを示したが、昇温時の転移温度と、転移した後の降温時の転移温度に若干のズレがみられる($\Delta t = 1.3^\circ\text{C}$)。これは、同一サンプルの比熱の測定、DTAの相転移観測実験においても、ほぼ同じ傾向(履歴現象)がみられた。

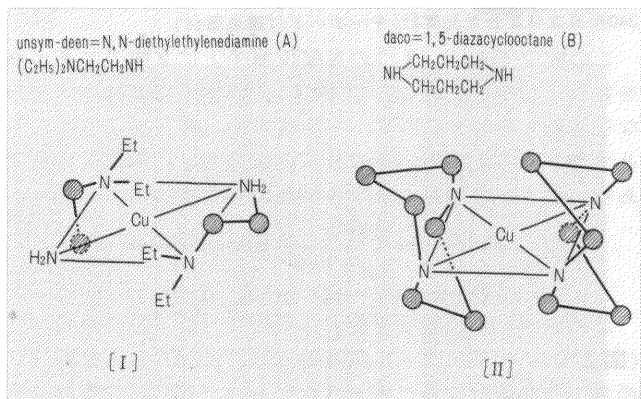


図1. 用いた配位子とその配位構造、斜線入り丸印はエチレン(-CH₂-)を示す。

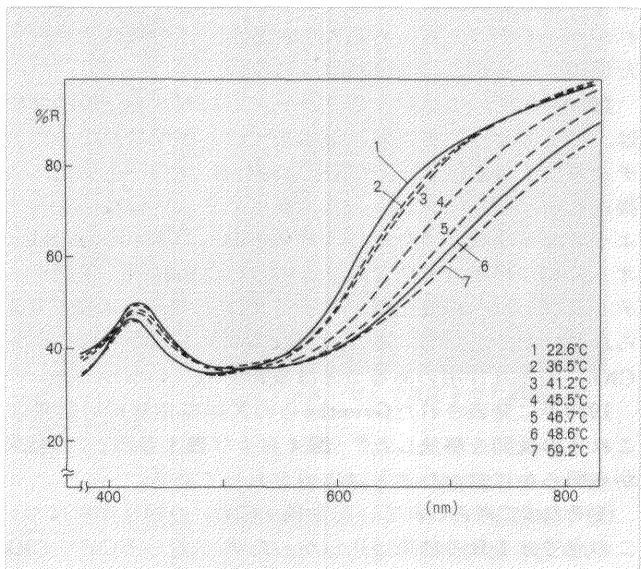


図2. 錯体[I]の温度可変反射スペクトル

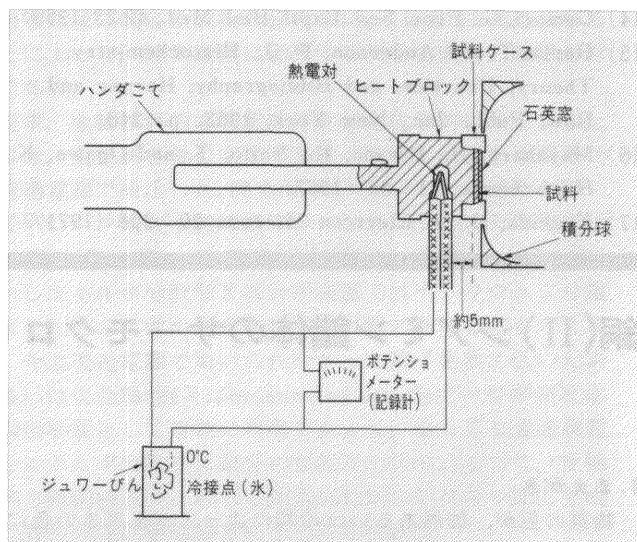


図3. 本研究で用いた反射スペクトル用温度可変装置

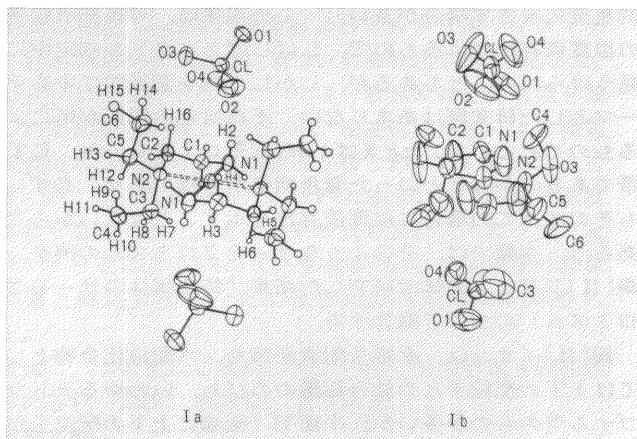


図4. 錯体[I]の低温[Ia]および高温型[Ib]の結晶構造⁴⁾

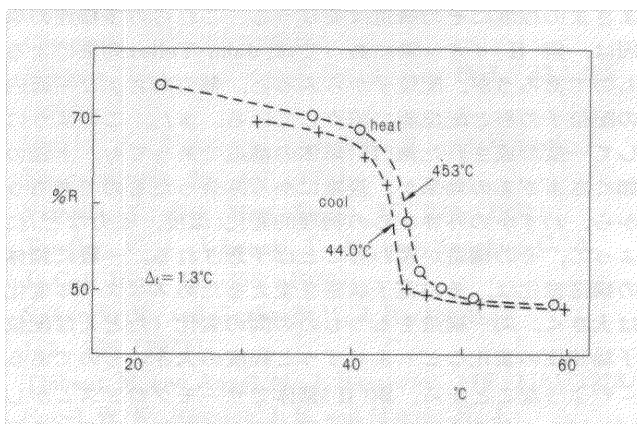


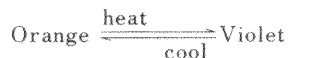
図5. 650nmにおける錯体[I]の拡散反射率の温度依存性

3. ビス(1,5-ジアザシクロオクタン)

銅(II)硝酸塩, $[\text{Cu}(\text{daco})_2](\text{NO}_3)_2$ [II], のサーモクロミズム

この配位子(B)を含む対応する過塩素酸塩 ($[\text{Cu}(\text{daco})_2](\text{ClO}_4)_2$)は、すでにMuskerらによって合成されており、これもやはり平面性の強い錯体である⁶⁾ 簡単な加熱実験をしてみると、栗色(低温)⇌紫色(高温)のサーモクロミズムを示すが、あまりその変化は大きくなく、ここでは述べない。

今回、新しく合成した表記の硝酸塩は、顕著なサーモクロミズムを示すことが明らかとなった⁷⁾



(低温形) $\leftarrow 95^{\circ}\text{C} \rightarrow$ (高温形)

この錯体の温度可変反射スペクトルを図6に示す。先のべたunsym-deen錯体と同じような挙動、長波長部にわずかに新しい吸収帯が出現する。この変化も可逆的であるが、転移温度が比較的高温(95°C)のため、繰り返しこの反応を観察していると、だんだん分解していくようである。

次に温度可変赤外線吸収スペクトルの測定結果より、先のunsym-deen錯体(過塩素酸塩)とは異なる挙動をすることが明らかとなった。

硝酸イオンのCombination band ($\nu_1 + \nu_4$)は、通常 $1700 \sim 1800\text{cm}^{-1}$ 領域に弱く出てくるが、このbandが NO_3^- の配位様式の判定に大変便利なのでそれを利用した⁸⁾つまり、 NO_3^- イオンがionic(配位していないで単なるcounter ionになっている)であれば、 1750cm^{-1} 付近に1本の吸収帯のみが現われ、単座配位子としての NO_3^- は、このbandが分裂し、その分裂巾($\Delta\nu$)が $10 \sim 20\text{cm}^{-1}$ である。2座配位子となるとその分裂巾が大きくなり $\Delta\nu = 20 \sim 40\text{cm}^{-1}$ となる。これに従ってこの錯体の NO_3^- の挙動をみると、低温形ではionic(1本の吸収、 1747cm^{-1})であり、高温形では NO_3^- は単座配位子として働いている(1742cm^{-1} , 1763cm^{-1} , $\Delta\nu = 21\text{cm}^{-1}$)。

図6の反射スペクトルのデータを先の場合(図5)と同じ取扱いをして得られたものが図7である。これから $\Delta t = 32.0^{\circ}\text{C}$ という値が得られたが、先のunsym-deen錯体の結果 $\Delta t = 1.3^{\circ}\text{C}$ と比べてその差の大きい事におどろく。

これをいかに説明するかは、結晶構造解析がなされていない現在では、可能な構造を議論するにとどまるが以下にのべる。unsym-deen錯体の場合にはアキシャル相互作用がなかった訳であるが、この場合には $\text{Cu}^{2+} - \text{NO}_3^-$ の相互作用がみられたこと。大きな履歴現象があることなどからみて、低温形と高温形ではその構造にかなり大きな変化があると考えられる。この配位子は中環環状ジアミンであり、その配位様式は図1に示したようなものである。今まで知られているこの配位子を含む錯体(Ni(II), Cu(II))では、図1の構造とほぼ同じで上下が強く遮蔽された形であるが、Co(II)錯体では完全に上下が閉ざされてなく、1つの Cl^- イオンが軸方向から配位した四角錐型錯体を得られている⁹⁾。このような事を考え合えると、この硝酸塩錯体の高温形においても、 NO_3^- イオンが軸方向から配位したテトラゴナル構造がもっとも可能性のある形であろう。配位子であるdacoは、それになると当然(というよりむしろdacoの構造変化と、 $\text{Cu}^{2+} - \text{NO}_3^-$ の静電相互作用が共同で働いている訳であろうが)図1[II]の構造からゆがんでくる。

図8には、このサーモクロミズムを示す錯体の可能な構造変化の1つを示す。これは先のエチレンジアミン環のコンホメーションの反転より大きなエネルギーを必要とする。このことが、錯体の $\Delta t = 32^{\circ}\text{C}$ という履歴現象に出てきたのであろう。

最後に興味あることとして、この硝酸塩(橙色)が対応す

る過塩素酸塩(栗色)の色よりblue shiftしている色調であることがみられる。一般的に言って、 ClO_4^- と NO_3^- を比べると、 NO_3^- の方が配位能が強く、金属イオンと相互作用しやすい。結果として NO_3^- 塩の方がred-shiftした色(吸収ピーク)になることが予想される。しかるに事実はその逆である。このようなことも結晶中での NO_3^- と錯体との相互作用の問題として興味深く思われる。

表1. 錯体[IIa]と[IIb]の結晶構造パラメータの比較⁴⁾

原子間距離(Å)	[IIa]	[IIb]
Cu—N1	2.001	2.02
Cu—N2	2.068	2.05
Cu—O2	3.65	4.16
N1—C1	1.471	1.43
N2—C2	1.487	1.40
N2—C3	1.510	1.43
N2—C5	1.492	1.69
C1—C2	1.507	1.37
結合角(度)	[IIa]	[IIb]
N1—Cu—N2	84.9	82.1
N1—Cu—N1	180	178.0
N2—Cu—N2	180	174.7
N1—Cu—O2	122.4	112.7
N2—Cu—O2	90.4	98.8

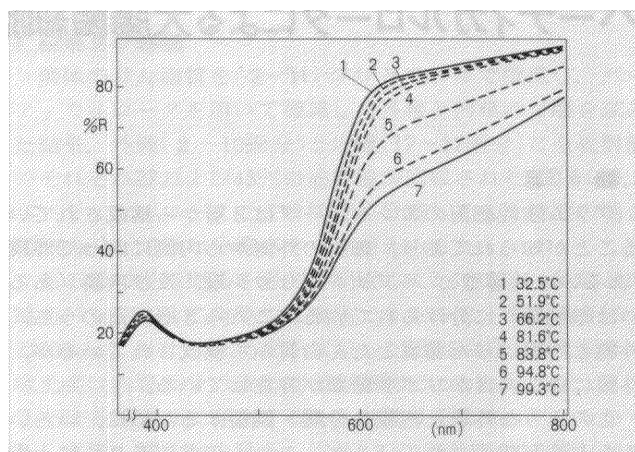


図6. 錯体[II]の温度可変反射スペクトル

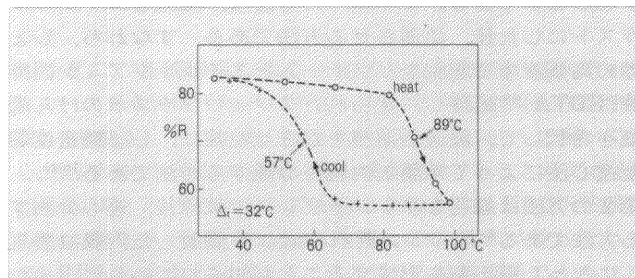


図7. 650nmにおける錯体[II]の拡散反射率の温度依存性

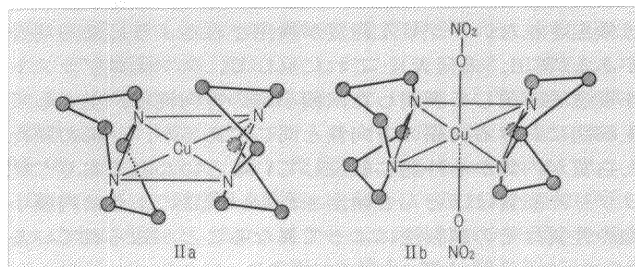


図8. 錯体[II]の低温形[IIa]と高温形[IIb]の可能な構造

4. おわりに

以前の研究では、固体反射スペクトルの測定を温度可変で行うことはむずかしく、たとえば本報中にも紹介した unsym-deen 錯体の場合においても、高温形(50℃)と低温形(25℃)の2点でのスペクトル曲線が与えられているのみであった。しかし転移の前後でももう少し細かい温度範囲の測定をすることによって、図6のような履歴現象も明らかにされる。そのような目的に沿った装置を著者らは熱望していたが、今回、340形日立自記分光光度計付属装置として、日立製作所那珂工場で作成して頂いた。

本装置の製作にあたり、日立製作所那珂工場応用技術センター小森律夫氏、東海工業所黒羽逸平氏に大変御世話になりました。御礼申し上げます。

■参考文献

- 1) たとえば a) Day, J.J.: Chem.Rev., 68, 649 (1948);
b) 曾根興三, 宇津野峻司: 化学の領域, 22, 222(1968);
c) 曾根興三: 分光研究, 25, 123(1976).
- 2) Lever, A.B.P., Montovani, E., Donini, J.C.: Inorg.

Chem., 10, 2424(1971).

- 3) a) Pfeiffer, P., Glaser, H.: J. Prakt. Chem., 151, 134(1938);
b) Hatfield, W.E., Piper, T.S., Klabunde, U.: Inorg. Chem., 2, 629(1963).
- 4) Grenthe, I., Paoletti, P., Samström, M., Glikberg, S.: Inorg. Chem., 18, 2687(1979).
- 5) 福田豊: 化学と工業, 33, 143(1980).
- 6) a) Musker, W.K., Hussain, M.S.: Inorg. Chem., 5, 1416(1966);
b) Musker, W.K., Hussain, M.S.: Inorg. Chem., 8, 528(1969).
- 7) 八巻さゆり: 修士論文(お茶の水女子大学), (1979).
- 8) Lever, A.B.P., Mantovani, E., Ramaswamy, B.S.: Can. J. Chem., 49, 1957(1971).
- 9) a) Musker, W.K., Steffen, E.D.: Inorg. Nucl. Chem. Chem. Lett., 9, 1011(1973);
b) Musker, W.K., Steffen, E.D.: Inorg. Chem., 13, 1951(1974).

U.D.C. [576.314.3:576.314.5].088.2:[579.232:579.842.11]

パーティカルロータによる大腸菌細胞外膜と内膜の分離・調製

奥田 慎一*

1. 緒 言

グラム陰性細菌のエンベロープは3層から構成されていることが知られており、細胞の外側から内側に向って外膜(あるいは外層壁)、ペプチドグリカン層、及び内膜(あるいは細胞膜)に分けられている。これら3層構造のうち、外膜と内膜はリン脂質とたん白質から構成されているが、外膜にはこのほかり多糖類が存在している。

このような外膜と内膜を分離・調製するために、いろいろな方法が報告されているが、これらの方法を2つに大別することができる。まず第一の方法は、細胞をスフェロプラストにした後、溶菌させる方法である。すなわち、しょ糖の高張液中で細胞をリソチームとエチレンジアミン四酢酸(EDTA)で処理し、えられたスフェロプラストのけん濁液を希釈して、浸透圧溶菌を起させた後に、しょ糖密度勾配遠心法によって外膜と内膜を分離する方法である¹⁻⁴⁾。

第2の方法は細胞をフレンチプレスで破碎後、遠心分離する方法である⁵⁻⁸⁾。フレンチプレスにより調製した内膜は裏返しになった膜小胞を形成することが知られている⁹⁻¹¹⁾。また、大腸菌細胞をフレンチプレスで破壊すると、正常な細胞では検出されないリゾリン脂質が検出されるようになる場合がある(奥田, 未発表)。これに反して、スフェロプラストを浸透圧溶菌して調製した内膜小胞の方向性は、主として生細胞における内膜の方向性と同じであるが、一部の膜たん白質が内側から外側に転位しているといわれており¹¹⁻¹⁴⁾、リゾリン脂質はほとんど検出されない¹⁵⁾。このように内膜小胞の性質はその調製法によって異なることが知られている。

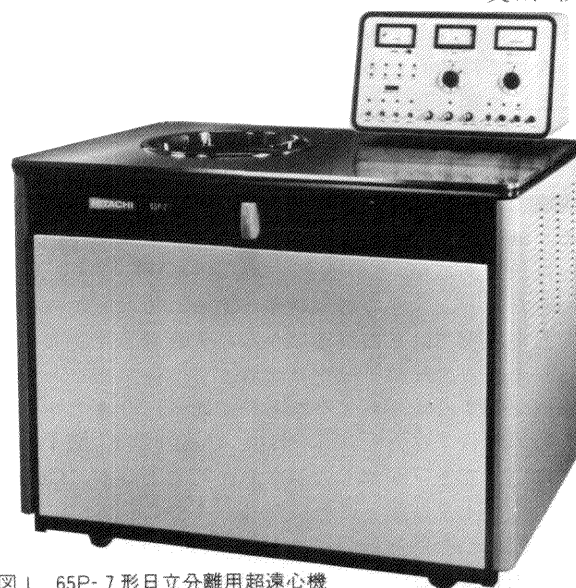


図1 65P-7形日立分離用超遠心機

また、膜標品をどの方法によって調製した場合にも、外膜画分に内膜が、内膜画分に外膜が混入しており²⁻⁸⁾、よりきれいな膜標品の調製法を確立する必要がある。さらに、膜標品を調製する場合、しばしばしょ糖密度勾配遠心法が用いられ、長時間(16~40時間)にわたる遠心操作が必要とされている²⁻⁸⁾ので、遠心時間の短縮が望まれている。

最近、パーティカルロータが市販されるようになり、密度勾配遠心の遠心時間を短縮できることが期待されている。著者はパーティカルロータを用いて大腸菌の外膜と内膜の分離を試みた結果、比較的短時間のうちに純度の高い外膜と内膜標品を調製することができたので報告する。

*東北大学 農学部 応用微生物学講座、農博

2. 材料と方法

2.1 使用菌株とその培養法： *Escherichia coli* W2252 を30° でブイヨン培地中で振とう培養し、対数増殖期の細胞を集菌し¹⁵⁾、膜の調製に使用した。

2.2 外膜及び内膜の調製：外膜と内膜はOsbornとMunsonの方法³⁾にほぼ準じて調製した。細胞をしょ糖(0.75M)ートリス緩衝液(10mM, pH7.8)にけん濁し、リゾチーム(70 µg/ml, 生化学工業)とEDTA(3 mM)で処理してスフェロプラストを調製した。スフェロプラストを浸透圧的に溶菌させ、溶菌していない細胞を遠心除去した。得られた上清を250,000×g で50分遠心分離した。沈殿した膜区分を注射器を用いてDNase I(10 µg/ml, シグマ社)を含む氷冷水中にけん濁し、6,500×g で5分遠心分離した。上清を再び250,000×g で50分遠心分離し、沈殿区分を25%しょ糖-EDTA(3 mM)にけん濁して粗膜標品とした。

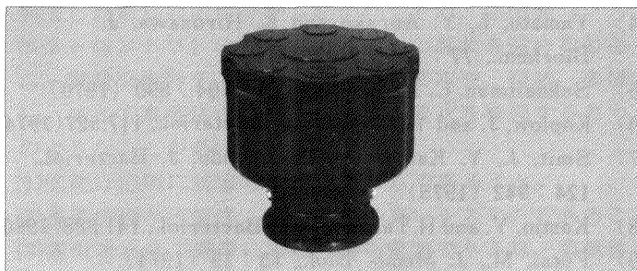


図2 RPV50T形日立パーティカルロータ

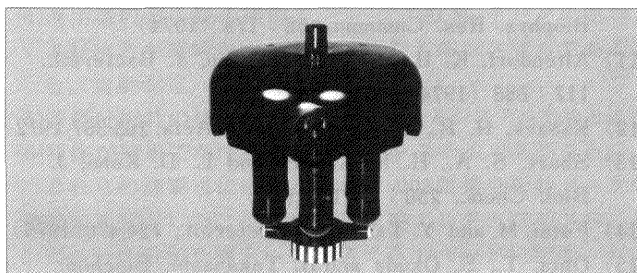


図3 RPS27-2形日立スウィングロータ

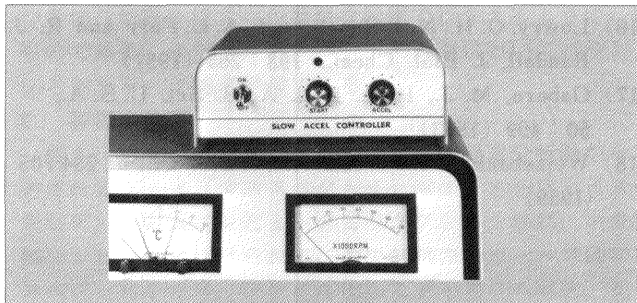


図4 SAC-7形日立スローアクセルコントローラ

粗膜標品から外膜と内膜を分離するために、下記のようなしょ糖密度勾配を作成した。ただし、いずれのしょ糖溶液もEDTA(3 mM)を含む。日立40CNチューブに55%(W/W)しょ糖溶液を4 ml入れ、その上に50%, 45%, 40%, 35%及び30%しょ糖溶液をそれぞれ6 mlずつ順次重層した。密度勾配を作成したチューブを4°で一晩静置した後、1.5 mlの粗膜標品を重層した。さらに、チューブの上端近くまで氷冷水を重層して遠心分離を行なった。しょ糖密度勾配遠心に用いたロータは日立パーティカルロータRPV50T、

(図2)および日立スウィングロータRPS27-2、(図3)、遠心機は日立分離用超遠心機65P-7(図1)、55P-2を用いた。65P-7形機にはスローアクセルコントローラSAC-7(図4)が装備されており、スローアクセラレータ、アクセルコントローラ及びブレーキをそれぞれ6、7及び7にセットして使用した。パーティカルロータは65P-7形機で遠心し、遠心条件は4°、50,000rpm、4時間であった。スウィングロータは65P-7形機と55P-2形機で遠心し、遠心条件は4°、24,000rpm、18時間であった。遠心終了後、チューブの底に穴をあけ、50滴ずつに分画した。外膜及び内膜画分は各膜区分を集めて水で希釈後、250,000×gで50分遠心分離し、沈殿区分を水で1回洗浄した。沈殿区分を水にけん濁して外膜及び内膜標品とした。

2.3 膜標品の化学分析：たん白質および内膜の指標物質としてのシトクロムb_LはそれぞれLowryら¹⁶⁾およびOsbornら²⁾の方法により定量した。外膜の指標物質としてリポ多糖類中の2-ケト-3-デオキシオクトン酸(KDO)を定量する場合には、水で洗浄した膜標品を水解¹⁷⁾後WeissbachとHurwitzの方法¹⁸⁾により定量した。たん白質を定量する場合、たん白質の標準物質としてウシ血清アルブミンを使用した。

3. 結果及び論議

菌体のりん脂質を〔2-³H〕グリセロールで標識し、パーティカルロータを用いて標識した外膜と内膜の分離を試みた結果、外膜(2~10画分)と内膜(17~27画分)に全放射能のそれぞれ27および48%の放射能が回収された(図6(a))。パーティカルロータで6時間遠心分離しても4時間の場合(図6(a))と同様な分離パターンがえられた。

ある量の粗膜標品を密度勾配遠心にかけて、外膜と内膜をバンドとして肉眼的に検出できるので、分画後各区分の600nmにおける吸光度を測定した(図6(b))。外膜画分の吸光度は内膜画分の吸光度ほど顕著ではなかったが、このことは各膜画分に存在するたん白質量を反映していなかった。事実、図6(b)の場合、外膜(2~9画分)と内膜(19~26画分)のたん白質量はそれぞれ9.16mgおよび5.28mgであった。

つぎに、各膜標品の純度を検討するために、パーティカルロータあるいはスウィングロータを用いて外膜と内膜を調製した(表1)。その結果、スローアクセルコントローラを用いて遠心分離すると、比較的純度の高い膜を調製することができた。とくにパーティカルロータを用いた場合に、KDOの内膜への混入率及びシトクロムb_Lの外膜への混入率が最も低かった。従来、大腸菌をはじめ二、三のグラム陰性細菌でえられた結果によると、一般に内膜の外膜区分への混入率に比べて外膜の内膜区分への混入率が高く、内膜画分のたん白質あたりのリポ多糖類の量(KDO, β-ヒドロキシミリスチン酸として定量)は外膜画分の量の0.1以上となっている²⁻⁸⁾。著者の実験結果でも、スローアクセルコントローラを用いない場合にはこの値が0.1以上になり(表1, 標品III), 表には示さないがフレンチプレスをういて膜標品を調製した場合にも0.1以上の値を示した。これに反して、スローアクセルコントローラを用いた場合、とくにパーティカルロータを用いた場合(表1, 標品I)には、この

値が約0.01となり、かなりきれいな膜を調製することができた。

また、パーティカルロータを用いた場合、外膜及び内膜に回収されたたん白質、りん脂質、KDO及びシトクロームb₁の収率はそれぞれ68、75、74及び84%であり(図6(a), 表1) Yamatoら⁴⁾及びSchnaitman⁵⁾などの結果よりも回収率が高かった。

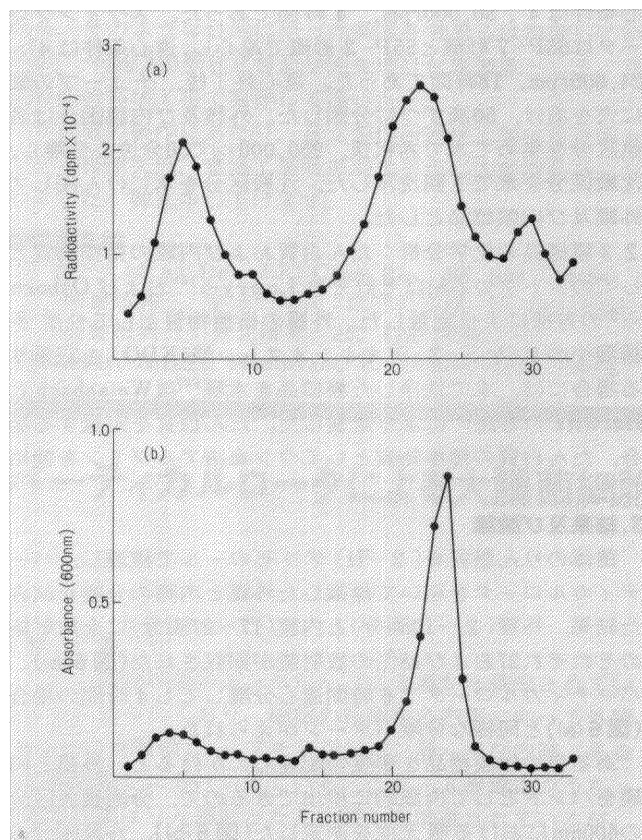


図6 粗膜標品のしょ糖密度勾配遠心

(a): 20 μ Ciの[2-³H]グリセロールで標識した培養(20ml)と非標識培養(10ml)を混合して粗膜標品を調製した。えられた粗膜標品の約1/3 (424, 354dpm) をパーティカルロータによるしょ糖密度勾配遠心に供した。(b): 300mlの非標識培養からえた粗膜標品(21.1mgのたん白質を含む)を、パーティカルロータによるしょ糖密度勾配遠心に供した。

表1 外膜と内膜標品の化学的組成

Preparation	Fraction	(A) Protein (mg)	(B) KDO (nmol)	(C) Cytochrome b ₁ (E ₄₂₇ - E ₄₀₉)	B/A	C/A ($\times 10^3$)	B/C ($\times 10^{-3}$)
I	Crude membrane	21.1	924	1.85	43.8	87.7	0.499
	Outer membrane	9.16	680	0.099	74.2	10.8	6.87
	Inner membrane	5.28	<4	1.46	<0.8	277	<0.003
II	Outer membrane	8.68	628	0.127	72.4	14.6	4.94
	Inner membrane	5.32	<4	1.60	<0.8	301	<0.003
III	Outer membrane	8.68	740	0.178	85.3	20.5	4.16
	Inner membrane	5.32	56	1.56	10.5	293	0.04

標品Iはパーティカルロータを用いて、標品II及びIIIはスウィングロータを用いてしょ糖密度勾配遠心を行なった。また、標品I及びIIの場合にはスローアクセルコントローラーを使用した、標品IIIの場合にはスローアクセルコントローラーを使用しなかった。

4. 結 語

リソチーム及びEDTA処理により調製した大腸菌のスフェロプラストを浸透圧的に溶菌させ、しょ糖密度勾配遠心

法により外膜と内膜を分離した。しょ糖密度勾配遠心には、従来用いられていたスウィングロータの代りにパーティカルロータを用いると、遠心分離時間が約1/2以下に短縮されるばかりでなく、純度の高い外膜及び内膜標品を調製することができた。

最後に、シトクロームb₁の測定をして下さった東北大学農学研究所熊谷 忠博士に感謝する。

参考文献

- 1) Miura, T. and S. Mizushima, *Biochim. Biophys. Acta*, **150** : 159 (1968)
- 2) Osborn, M. J., J. E. Gander, E. Parisi and J. Carson, *J. Biol. Chem.*, **247** : 3962 (1972)
- 3) Osborn, M. J. and R. Munson, in *Methods in Enzymology* (Fleischer, S. and L. Packer, eds.), Vol. XXXI, pp. 642, Academic Press, New York (1974)
- 4) Yamato, I., Y. Anraku and K. Hirose, *Biochem.*, **77** : 705 (1975)
- 5) Schnaitman, C. A., *J. Bacteriol.*, **104** : 890 (1970)
- 6) Koplow, J. and H. Goldfine, *J. Bacteriol.*, **117**:527(1974)
- 7) Smit, J., Y. Kamio and H. Nikaido, *J. Bacteriol.*, **124** : 942 (1975)
- 8) Kamio, Y. and H. Takahashi, *J. Bacteriol.*, **141**:888(1980)
- 9) Futai, M., *J. Membr. Biol.*, **15** : 15 (1974)
- 10) Hertzberg, E. M. and P. C. Hinkle, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **58** : 178 (1974)
- 11) Altendorf, K. H. and A. Staehelin, *J. Bacteriol.*, **117** : 888 (1974)
- 12) Kaback, H. R., *Biochim. Biophys. Acta*, **265**:367(1972)
- 13) Short, S. A., H. R. Kaback and L. D. Kohn, *J. Biol. Chem.*, **250** : 4291 (1975)
- 14) Futai, M. and Y. Tanaka, *J. Bacteriol.*, **124**:470(1975)
- 15) Ohta, T., S. Okuda and H. Takahashi, *Biochim. Biophys. Acta*, **446** : 44 (1977)
- 16) Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall, *J. Biol. Chem.*, **193** : 265 (1951)
- 17) Osborn, M. J., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **50** : 499 (1963)
- 18) Weissbach, A. and J. Hurwitz, *J. Biol. Chem.*, **234**:705 (1959)

解 説

U.D.C.543.51.087.9:681.322

M-003形日立質量分析計データ処理装置

加藤 義昭* 高橋 貞夫* 小室 文男* 武田 隆三郎* 仁平 則子*

1. はじめに

1950年代に質量分析が有機化合物の分析に用いられて以来、質量スペクトルの測定回数が非常に多くなり、得られるデータの整理に膨大な作業を要するようになったが、コンピュータの利用によりこの労力は著しく軽減された。加えて、高分解能質量分析計のデータ解析、未知成分の同定等、コンピュータの高速性、多量のデータを扱える能力を利用した新しい応用分野も開かれてきた。応用面（マススペクトロメトリ）の発展拡大は装置の普及を速めるとともに、質量分析計データ処理に対する要求を、複雑、多様化し、加えて高度化された。これらの要求を整理するとつぎのようなことがあげられる。

- (1) 広範な応用に対応できるシステムであること。
- (2) 多重処理が可能等、処理能力の高いシステムであること。
- (3) 運用者自身で簡単に処理内容を変更できる等、柔軟性を持ったシステムであること。
- (4) 運用者の最少限の操作で、データの収集、データの処理および出力が連続かつ自動的に行なえるシステムであること。（自動測定、自動処理への布石）
- (5) 質量分析計の技術的改良に対応できるシステムであること。
- (6) 操作が簡単でかつわかりやすいシステムであること。

これらの諸要求に応えるためM-003質量分析計データ処理装置を開発した。これは、最新のエレクトロニクス、コンピュータ技術を導入したシステム・ハードに加え、ソフトウェアの面からもソフトウェア体系を整備し、高度でかつ多様な処理を誰でもが簡単な操作で行なえるようにしたものである。またソフト・ハードの両面においてバランスのとれたデータ処理装置である。

2. 装置の概要

図1にM-003システム構成図を示す。質量分析計から出力されるデータ（マススペクトル）はインターフェイスを介しデータ収集コンピュータでリダクションされ、中央制御コンピュータに送られる。中央制御コンピュータはマススペクトルを整理、ファイル化してディスクへ転送、記憶する。ディスク上に蓄えられたデータは、指示により逐次読み出され、処理を受け、出力制御コンピュータに出力情報として転送される。入出力制御コンピュータは運用者により指示されたフォーマットに従いCRTやプリンタプロッタ、プロッタなどにバーグラフやマスクロマトグラムなどを出力させる。

3. データ処理装置に対する諸要求に対するM-003の対応

データ処理への種々の要求に答えるため、M-003は以下に述べるハードウェア、ソフトウェアの両面からのアプロ



M-003形日立質量分析計データ処理装置

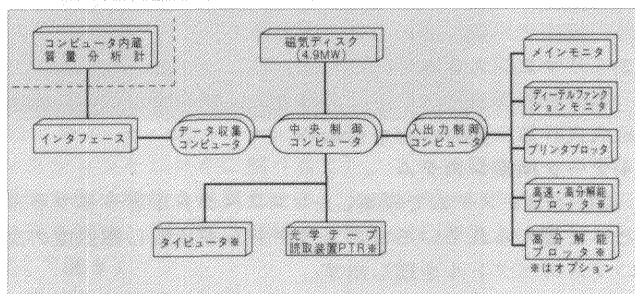


図1 M-003システム構成図

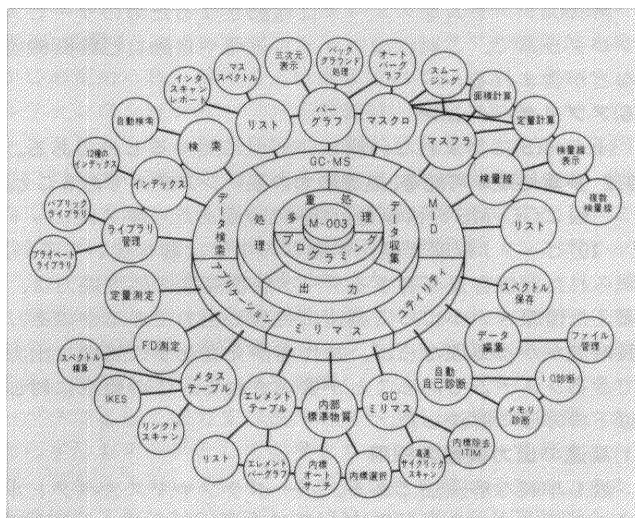


図2 M-003システムソフトウェア概略図

*日立製作所 那珂工場 電子装置設計部

ーチで対応した。

3.1 広範な応用に対応するシステム

図2にM-003システムソフトウェアの概略図を示す。本システムは1つの管理プログラムにより管理、統括されている。そのため、システムソフトを構成する種々のソフトは同一の操作法で統一され、多くのアプリケーションを自由に指定、操作できる。また、主なアプリケーションも互に全く独立しているのではなく、1つのアプリケーションから別のアプリケーションへの移行も簡単にできる。たとえば、高分解能質量分析計データ処理で収集したデータはフォーマットを変更すればGC-MSデータ処理(いわゆる低分解能質量分析計データ処理)で取扱うことができる。またGC-MSモードで得られたマスキログラムのデータをMIDモードで得られたマスキログラムのデータと同様に扱うことができる定量計算が収集モードに関係なく可能である等、システムの応用が多様である。さらにM-003システムの特長であるプログラミング機能、多重処理機能は全ての処理に対応している。本システムを大別すると6つのサブシステムに分かれており、広範な応用に対応できるようになっている。

(1)GC-MSシステム

最も基本的な処理で、低分解能データ収集、バーグラフ、マスキログラム(以下マスキロと略す)などの処理、さらにマスキロ定量などが主な処理内容である。

(2)MIDシステム

マス・フラグメントグラム(以下マス・フラと略す)の処理で検量線法による定量計算を行なう。マスキロ定量と同様の操作で処理を進めることができる。

(3)ミリマスシステム

高分解能質量スペクトルの処理で、精密質量測定、元素組成式計算、出力などを行なう。

(4)データ検索システム

GC-MSシステムで収集したマススペクトルとライブラリとして蓄えられているマススペクトルを比較し類似度の高いマススペクトルを捜し出す。

(5)ユーティリティ

M-003システムをスムーズに稼働させるためのサービスプログラムで、これにはファイル管理や自動自己診断機能などが含まれる。

(6)アプリケーション

(1)から(5)に含まれない新しい応用に関するものである。

3.2 多重処理が可能等、処理能力の高いシステムであること。

一般にGC-MSの情報量は概略1時間あたり数メガビット($\sim 10^6$ ビット)程度で理化学機器の中では群を抜いて多い。限られた記憶容量を有するデータ処理装置の処理能力は、蓄えた情報をいかにして高速に処理し出力できるかにあり、長時間かかる処理ならば、操作者が介在せずに処理し出力できるシステムであることが要求される。この要求に対し以下の方法で解決した。

(1)高速の出力機器の採用

最も単純な解決法である。バーグラフやマススペクトルリスト、ミリマスの結果出力などにプリンタプロッタを採

用した。このプリンタプロッタの印字速度は140文字/秒で、グラフィックの出力は画面90秒以下である。またより詳細な出力のためには高速高分解プロッタが用意されている。この進歩速度(線を引いたり、ペン先が移動する速度)は最大4,000ステップ/秒(40cm/秒)で極めて高速である。両機種とも従来機(当社002B)に比して1桁近いスピードアップがはかられた。

(2)多重処理による能力アップ

(1)の高速の出力機器により、ある程度の能力向上をはかることは可能である。しかし、それには当然限度がある。コンピュータの高速性を利用し、入出力機器によりシステムの効率、能力が制限されることを防ぐ有力な手法として多重処理がある。

これは、コンピュータが一度に複数の入出力機器を制御するもので、外部から見ると全く独立した処理を同時に進行させ得る機能を言う。データ収集も1つの入力手段と考えれば、データ収集している間に独立の処理を行なわせることができ、システムの使用効率は飛躍的に高めることができる。キャピラリーカラムなどによる測定のように、測定に長時間要する場合に有効である。

また、プロッタなど比較的遅い出力機器にバーグラフやマスキロを連続して出力しながら、並行して独立した処理を行なわせることも可能である。

(3)自動処理による能力アップ

(1)や(2)によるものの上にさらに処理能力アップの方法がある。データ処理装置を人がついていなくても動かすことである。昼休みや夜間あらかじめ設定された手順に従い処理を自動的に進めさせれば、人がついていない時のみ処理を行なわせるのに比べ、格段に処理能力は向上する。M-003システムはプログラミング機能を利用し、システム運用者の要求により自由に自動処理が行なえるようにした。運用者が希望する自動処理をあらかじめプログラムしておき、装置を離れる前に自動処理を起動すれば、後は無人でコンピュータが処理を進めてくれる。

(1)、(2)、(3)によりM-003のデータ処理能力は飛躍的に高まった。

3.3 システムの柔軟性

システムの柔軟性とは、システムが種々の状況の変化に対応できる能力を言う。システム操作に熟練し、より高度な多重処理を行なおうとした場合や顧客固有の処理方式を取り入れようとした場合に、容易に対応できるシステムが必要である。

このシステムの柔軟性を高めるため、M-003は3の(2)項で述べたプログラミング機能を採用した。

プログラミング機能とは、システムの柔軟性を高めるため、処理の流れを自由に外部から容易にコントロールできるようにする機能である。M-003は、このプログラミング機能を実現するために、ソフトウェア上次のように工夫がこらしてある。大きな処理はあらかじめ機能毎に小プログラム(プロセッサと呼ぶ)に分割してあり、実際の処理はこれらを組み合わせ(プログラム)実行させる。プロセッサの組み合わせを変更すれば、当然処理そのものも変更で

きる。

このプログラミング機能には、くり返し指定や判断機能を備えているため、かなり複雑な処理もあらかじめ作成、登録することができる。登録されたものは、指示により起動され自動的に処理を進めて行くことができる。

3.4 質量分析計の技術的改良に対応できるシステム

G Cミリマス、G C-M S高速サイクリック収集、F D、など質量分析計の測定技術も日毎に改良されてきている。

さらに新しい測定技法も開発されようとしている。分析極限を追求し、測定精度の向上のためにデータ処理装置においても新技術の導入が急務となった。

(1)測定精度の向上、ダイナミックレンジの向上

データ処理を行なう場合、質量分析計から出力されるアナログ情報を定められた周期(サンプリング周期)でデジタルに変換することが必要である。このデータ収集はコンピュータの制御の下で実行される。そのためサンプリング周期はコンピュータの演算速度に制限される。ミニコンによる場合100 μ secが限度であった。さらに分析範囲を広げるためには測定精度向上の上にダイナミックレンジの広いデータ収集が必要である。ダイナミックレンジを1桁広げると、測定可能範囲を1桁広げることができる。

M-003システムではデータ収集のために特別設計のコンピュータ(演算速度はミニコンに比して1桁速いもの)を採用し、中央制御コンピュータの指示の下に独立してデータ収集を行なわせることにした。データ収集した結果はデータ収集コンピュータから中央制御コンピュータに送られるため、データ収集中における中央制御コンピュータの負担は軽減され多重処理等の実をあげるとともに、データ収集の高速、高精度化を達成できた。サンプリング周期は25 μ sec、ダイナミックレンジ 2.6×10^5 である。

(2)入出制御出コンピュータの採用

データ処理装置に指示を与えたり、処理結果を出力するものが入出力機器である。これらの動作速度はコンピュータの演算速度に比して $1/10^3$ から $1/10^4$ である。これらの制御を直接中央制御コンピュータで行なうことは、単純なルールによる繰返しが多く処理効率の上から好ましくない。

中央制御コンピュータの負担を軽くし、システム全体効率を高めるために、入出力制御コンピュータを導入した。

これにより、中央制御コンピュータは、入出力制御コンピュータに最少限のデータを送出するだけで、実際の出力制御を入出力制御コンピュータが行なうため、中央制御コンピュータの実稼動時間が軽減され、他の処理に移行でき、全体としての処理効率を高めることができる。

3.5 操作性

データ処理装置は、その発展の過程でシステムの柔軟性を高めるために、処理指定方式としてフルキーボードから処理名称を入力するというのが、広く行なわれてきた。この方式の欠点は、処理名称を正確に記憶していなければ、システムを十分に活用できない点にある。M-003では、ファンクションセレクトキーとCRTの組み合わせによる処理指定方式を採用した。

データ処理の機能を10個に大分類し、これをメインファ



図3 メインファンクションセレクト



図4 デーティルファンクションセレクトによる指定

ンクションセレクトに割り当てた。この10個のキーの下に最大8個の機能を従属させる。メインファンクションセレクトを押すと、これに従属する機能がCRT上に表示される。(図3)

機能名を確認した後、それに対応するデーティルファンクションセレクトのキーを押せば希望する処理を起動できる。(図4)メインファンクションセレクトの機能はあらかじめ定められ、操作卓上に表示されているが、デーティルファンクションセレクトの機能は、指定されたメインファンクションセレクトに対応して9 $\times$ CRTに出力される内容に対応する機能に変化する。オペレータは2回のキー操作で、最大 $10 \times 8 = 80$ 個の処理機能を選択指定できる。これにより、オペレータは装置固有の処理名称(シンボリックコード)を記憶する必要がなくなった。

質量分析計データ処理の最も基本的出力の1つにマスキロデータを判断し希望するバーグラフを出力させるものがある。マスキロのピークを判断し、バックグラウンドやバーグラフとして出力すべきマススペクトル指定する際、かならずしもデータとして必要としないスキャン番号をキーボードから入力している。この煩しさを避けるため、また直感的な入力に対応するためにM-003ではCRT画面上に、

カーソルコントローラにより移動可能な大きな十字状のカーソルを表示し、これによりバーグラフやバックグラウンドの指定が画面を見ながら行なえるようにした。(図5, 図6) また、このカーソルはCRT上にコメントを入力する際の位置決め、マスクロやバーグラフを拡大縮小したりする際の領域の指定にも用いられる。

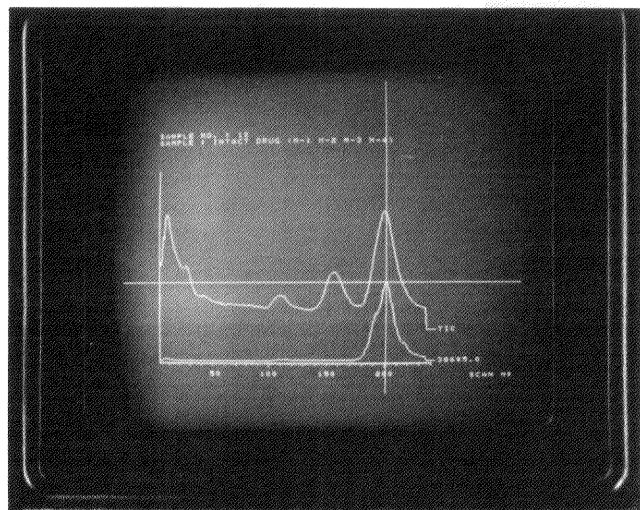


図5 カーソルによる位置指定

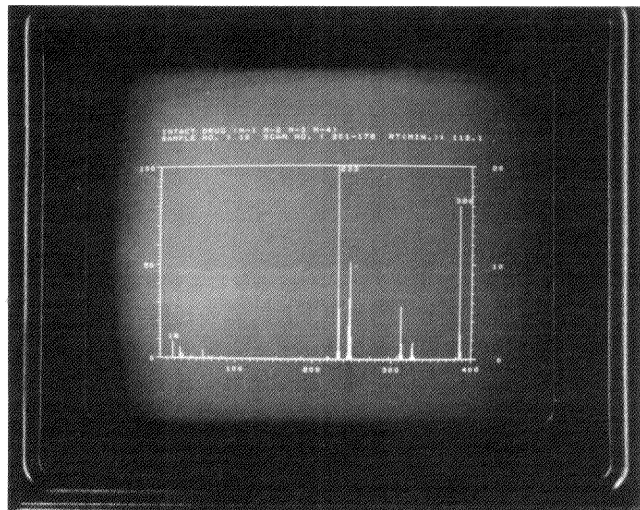


図6 バーグラフ出力

4. 応 用 例

(1) オートバーグラフ

マスクロをCRT上半分に出力する。マスクロのピーク判定を行ない、ピークトップをさがす。またマスクロの最低点をさがしバックグラウンドスペクトルの位置とする。マスクロのピークに対応するマススペクトルをバックグラウンド処理を行なってCRT下半分に出力する。CRTの下半分のバーグラフは5秒間保持され、その後下半分のみ消去され次のバーグラフが出力される。(図7)

(2) MID定量

図8にマスフラの出力例とピーク分割の例を示す。ピークの下に数字はグルーピングの場合のグループ番号を示す。

図9は最少二乗法による検量線の出力例を示す。

(3) エレメントバーグラフ

精密質量測定の結果出力の例で、バーグラフの各ピーク

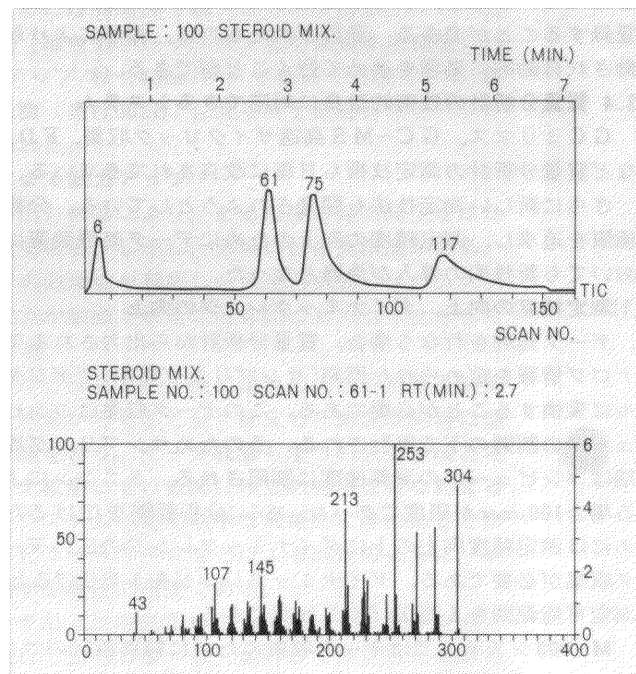


図7 オートバーグラフ出力例

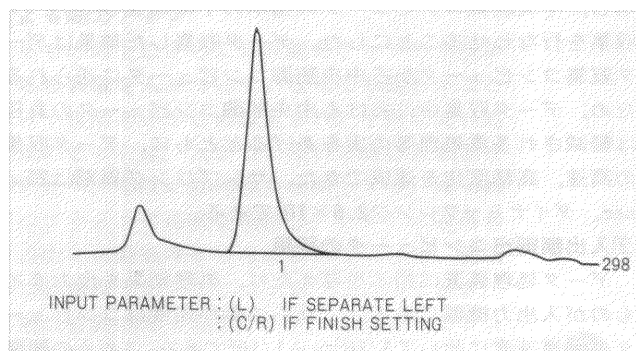


図8 MFピーク分割例

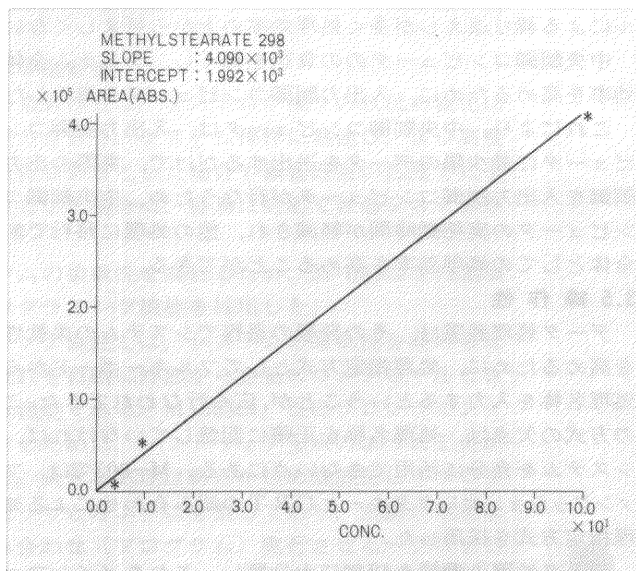


図9 検量線出力例

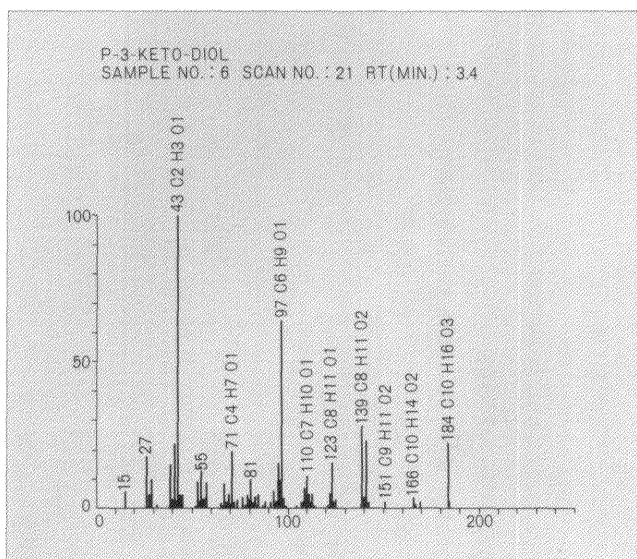


図10 エレメントバーグラフ

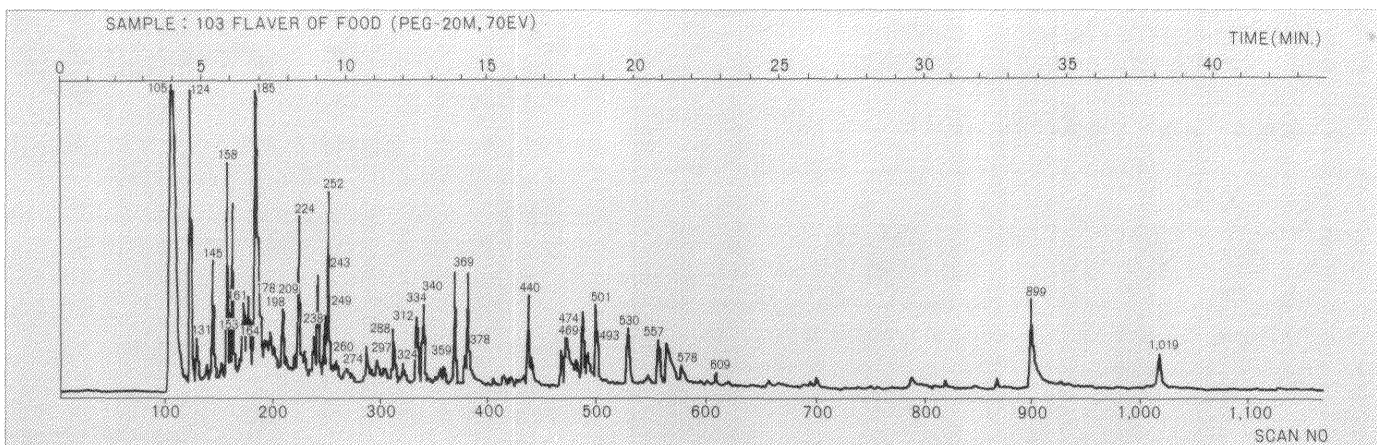


図11 食品フレーバ分析例 (RTIC)

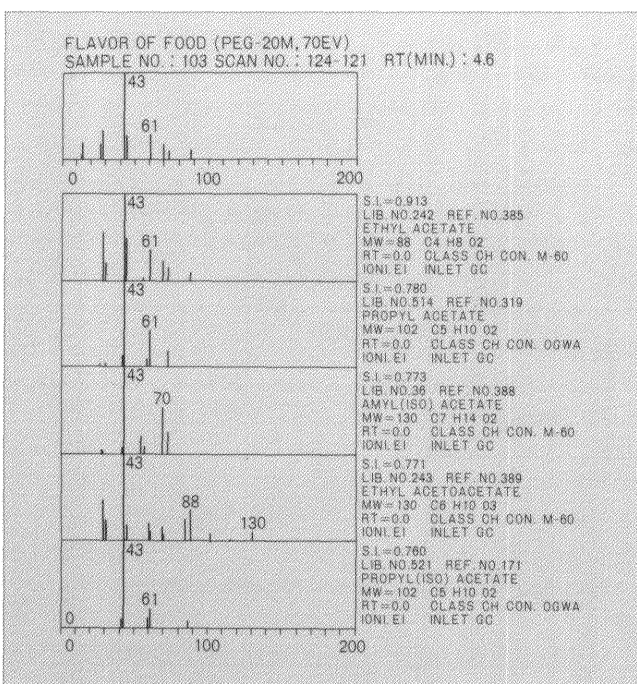


図12 酢酸エチルと同定された例

の上に組成式が出力される。(図10)

(4)データ検索

図11に食品のフレーバの分析のRTIC*を示す。このスキャン番号124と489のデータ検索の例を示す。それぞれ、酢酸エチル、1-hexen-3-olと同定できた。(図12, 図13)

5. おわりに

M-003データ処理装置は、操作性、処理能力に関し、ソフトウェア、ハードウェア両面から十分検討された装置であり、基本操作法のみで装置を稼働できる初期段階から、必要に応じて多様な処理をプログラミングできる段階へと、幅広い顧客の要求に対し段階を持って応えうる装置である。さらに今後、理化学機器の発展に伴う新しいデータの処理にも十分対処し得る可能性を内包したデータ処理装置である。

*RTIC: Reconstructed Total Ion Chromatograph

質量分散を受けた後検出された全てのイオン電流値を積算して得られるもの。ガスクロマトグラムに相当する出力が得られる。

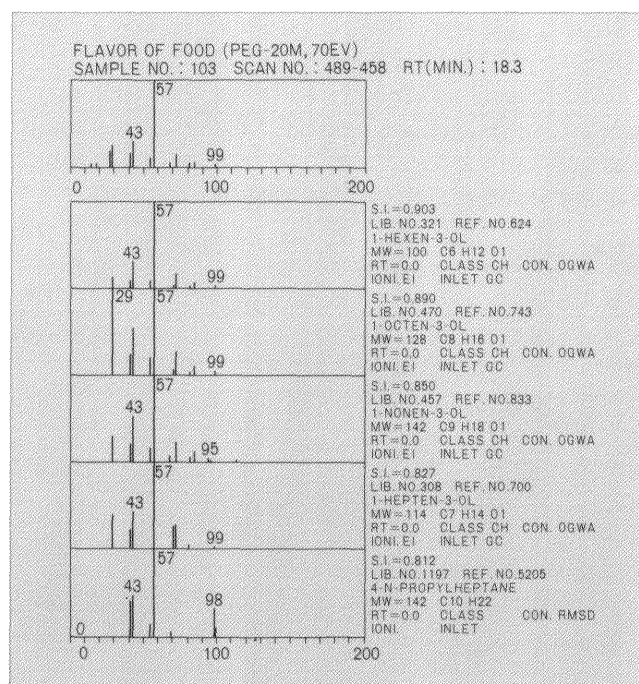


図13 1-hexen-3-olと同定された例

日立縮小投影露光装置RA-101システム

仙石 正行* 井上 克* 栗本 宏三*

1. はじめに

半導体の生産量は、産業機械のエレクトロニクス化、情報産業の需要に支えられて、年々大きく伸びてきているが、中でもIC(半導体集積回路)は、高集積化が進むとともに、わが国でもここ数年間年平均20%をこえる急成長をとげている。これに伴ない微細加工技術の進歩は著るしく、現在では、最先端の量産技術として、線幅3 μm の技術が確立されているが、超LSI(大規模集積回路)開発のため、さらに微細な加工技術への研究開発がなされ、量産のための製造装置の実用化が望まれている。

このたび、これらのニーズにこたえられる半導体製造装置として線幅2 μm 以下のLSIの微細回路パターンを0.2 μm の高い位置合わせ精度で、シリコンウェーハ上に直接転写できる縮小投影露光装置RA-101システムを完成したので、その概要について報告する。

2. 縮小投影露光装置と日立RA-101システム

LSIの製造工程で、最も重要な工程の一つは、写真技術を応用して、回路パターンをシリコンウェーハ上に転写するホトリソグラフィ工程で、この工程に使用する装置の性能がLSIの特性や、製品の歩留まり(良品率)を決定づけることになる。これまで、回路パターンの転写には、ホトマスク(パターン転写の原版)をウェーハに密着転写あるいは、等倍で投影転写する装置が用いられている。しかしこれらの方法では、ホトマスクの欠陥の影響やウェーハの変形による位置合わせの誤差が生じ、またホトマスクとウェーハを密着転写する場合には、ウェーハに塗布されたレジスト(感光剤)の剝離とか異物混入による損傷も生じやすい等の問題があった。

特に、2 μm 以下の微細な回路パターンを高い位置合わせ精度でウェーハ上に形成するには、ホトマスク介在による影響を少なくするため、レチクル(実回路パターンの10倍の大きさに描かれた、ホトマスクの原版)をステップアンドリピート方式で1チップずつ順次ウェーハ上に直接投影露光する $\frac{1}{10}$ 縮小投影露光装置が開発された。即ち、縮小投影露光装置は、ホトマスク製造装置としてのステップアンドリピートカメラ機能と、ウェーハ上へのパターン転写装置としてのアライナ機能をもったものであり、以下のことが可能でなければならない。

- (1)レチクル、ウェーハの相対位置合せ(X, Y, θ)
- (2)レチクル、レンズ、ウェーハの光軸方向相対位置の保持
- (3)ウェーハの超精密定寸法位置決め
- (4)縮小レンズの高解像度と像の歪曲がないこと。
- (5)高輝度と、一様の照度分布を有する照明系

日立縮小投影露光装置RA-101システムは、これらの機能を有するとともに、ウェーハの変形による位置ずれを防ぐ

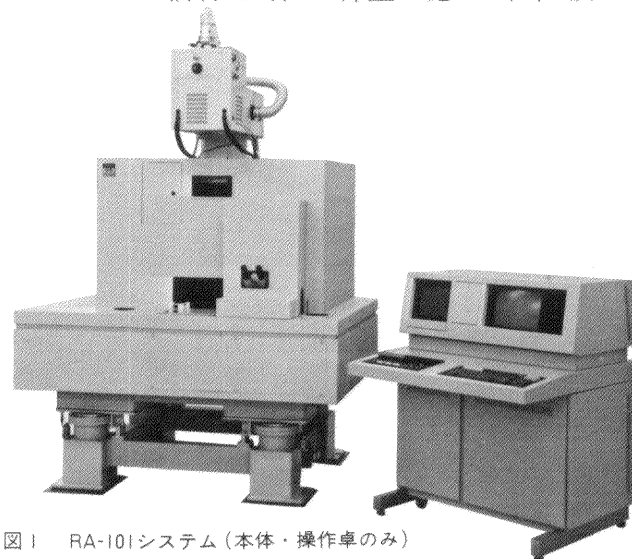


図1 RA-101システム(本体・操作卓のみ)

方法として、各チップ毎に自動位置合わせを行なう機能(1チップアライメントモード)をもっている。また、レチクル側を微動させる新位置決め方式の採用により、安定な運転を行なうことができ、ウェーハの装着誤差、半導体製造工程中に生ずるウェーハのそり、伸縮などの不均一な変形をコンピュータにより自動的に計測し、ウェーハ毎の位置合わせからチップ毎の位置合わせへの自動選択ができるなど、多くの新しい機構を盛り込んでいる。

3. 縮小投影光学系及びシステム制御方法

図1にRA-101システムの外観写真を示す。縮小投影露光装置本体及び制御ラック、操作卓、恒温チャンバにより構成される。図2にシステムの構成図を示す。露光用光源に400Wの超高圧水銀ランプを使用し、楕円面鏡で集光したのち、フィルタ及びコンデンサレンズを経て、レチクル上にg線(436nm)の、照度分布が均一な照明光を得る。レチクル原画を透過した光は、 $\frac{1}{10}$ の縮小レンズ($F=1.6/50\text{mm}$)により、X-Yステージ上の吸着台に真空吸着されたウェーハ上に結像するため、レチクル原画は、 $\frac{1}{10}$ に縮小して露光される。縮小レンズは、g線専用に設計された高解像度のレンズを使用しているため、光学歪が少なく、線幅1 μm 程度の微細パターンが解像できる。

レチクルの有効面積は、100mm $\times$ 100mmであり、最大10mm $\times$ 10mmまでのチップパターンを露光することができるため、5mm $\times$ 10mm以下のLSIパターンの場合、複数チップパターンのレチクルを使用することにより、スループットの低下を防止できる。一方、画像合成モード(レチクルを交換し、異なるパターンを同一ウェーハ上に隣接露光する)を用いることにより、10mm $\times$ 10mm以上のLSIパターンも露光することができる。

縮小投影方式は、レチクル原画を、ステップアンドリピート方式でウェーハ上に順次露光する方式であるため、

X-Yステージは高速度の移動と、高精度の位置決めが必要である。RA-101システムは、DCサーボモータを用い、最大70mm/秒でステージを移動することができる。ステージの位置は、レーザ干渉計を利用した測長系により、最小0.02 μm までの高分解検出が可能である。X-Yステージの停止誤差は、レーザ測長系で検出されたのち、レチクル微動台にフィードバックされ、ステージ移動毎にレチクルを微小移動することにより補正され、0.2 μm 以内の高い位置決め精度(配列精度)を得ている。

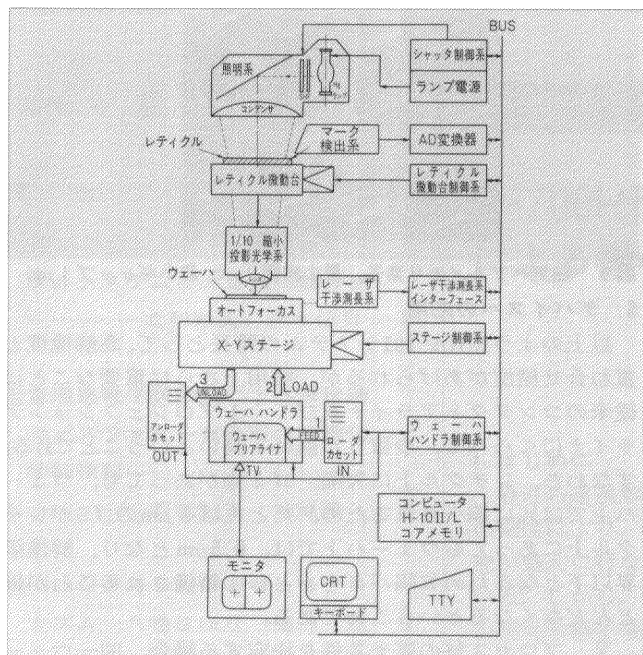


図2 システムブロックダイアグラム

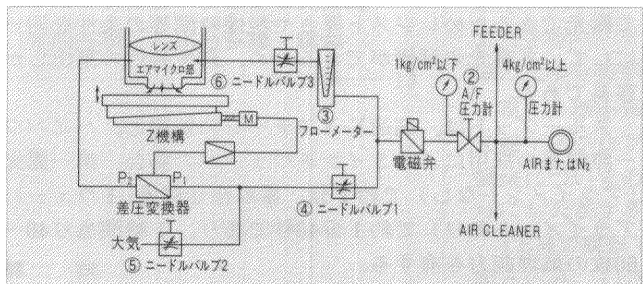


図3 自動焦点機構の原理

4. 自動焦點機構

パターンを正確に露光再現するためには、焦点方向の位置合わせを正確に行なわなければならない。本光学系では、照明光波長が436nm、開口数(NA)=0.28なので焦点深度は、 $\pm 2\mu\text{m}$ 程度となり、通常のウェーハ露光に対し、十分な焦点深度が得られるが、プロセス処理に伴うウェーハの変形、そりに対しても、ベストフォーカス面が維持できるように、エアマイクロの原理を用いた、自動焦点機構が設けられている。

図3にRA-101システムにおける自動焦点機構の原理を示す。縮小レンズの下部に設けられたエアマイクロ部から均等に空気をふき出し、ウェーハ面にあてる。この空気圧は試料圧として差圧変換器に入力し、参照圧との圧力差を検

出し、Z軸モータにフィードバックされる。Z軸モータは常にベストフォーカス位置にウェーハが設定されるようにZ移動台を上下させる。図4にベストフォーカスを中心とし、ウェーハ面を±2μm振った時のレジストパターンを示す。いずれも1.2μm(2.4μmピッチ)を解像していることが判る。

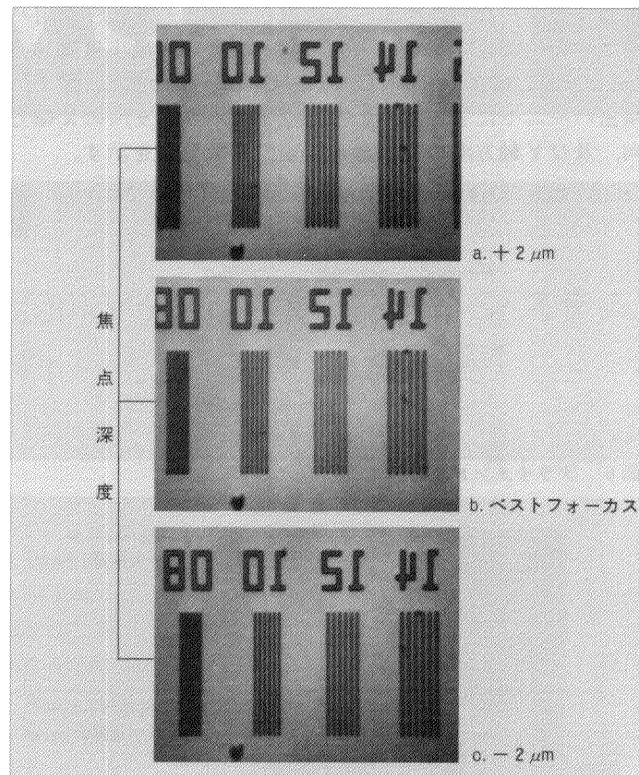


図4 焦点深度を示す例（レジストパターン）

5. アライメント方式及び重ね合せ精度

LSIの製造工程では、シリコンベースの上に酸化膜(SiO_2)やポリシリコンの形成、アルミ配線等のプロセス処理を行なうため、何層もの重ね合せを行なわなければならない。すなわち前工程でウェーハ上に形成されたパターンに対して、新たに形成するレチクル上の回路パターンを高精度に位置合せする必要がある。この位置合せは、ウェーハ上のパターンを検出して、両者のパターンと相対的に高精度に合わせるため、アライメント方式の良否は、LSI製造の特性や歩留りに、極めて重要な影響を与える。

RA-101システムにおけるアライメント方式を図5に示す。レチクルとウェーハの相対位置検出は、レチクル上の開口窓より、ウェーハ照明光を入射させ、縮小レンズを通してウェーハ上の X_1 又は、 Y_1 の位置合わせマークを照明し、その反射光をレチクル上の同じ開口窓を通して光電検出する。光電検出器に入射した光は、スリットのスキャンにより、 $0.04\mu\text{m}$ 毎にコンピュータに取り込まれて波形処理され、正確にウェーハ位置を検出する。

次に、適当に離れたチップ内の合せマーク X_2 , Y_2 を検出することにより、ウェーハ装着誤差の中の回転誤差 $\varepsilon\theta$ は、レチクルの回転によって補正され、位置誤差 ε_x , ε_y は(伸縮を含め)露光位置の計算に盛り込まれて補正される。

ウェーハの伸縮が特に大きな場合又は、局所的に異なる場合は、チップ毎のアライメントが必要であり、あらかじめ設定された伸び縮みの量(しきい値)に応じて、1ウェーハアライメントモードか、1チップアライメントモードかを選択し、露光することができる。

図6にテストレティクル(NAK-1、NAK-2)を用いて、重ね合せを行なったウェーハの重ね合せ誤差チェック用バーニアの一部を示す。上方の粗バーニアは、最小目盛 $0.5\mu\text{m}$ 、下方の精密バーニアは最小目盛 $0.1\mu\text{m}$ である。図7に、精密バーニアにより読みとったウェーハ内25ヶ所のX軸方向、及びY軸方向の重ね合せ誤差の度数分布を示す。

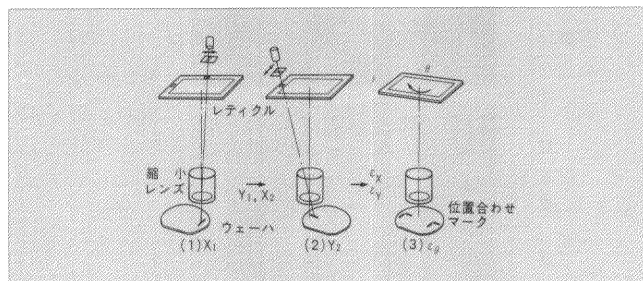


図5 アライメント方式

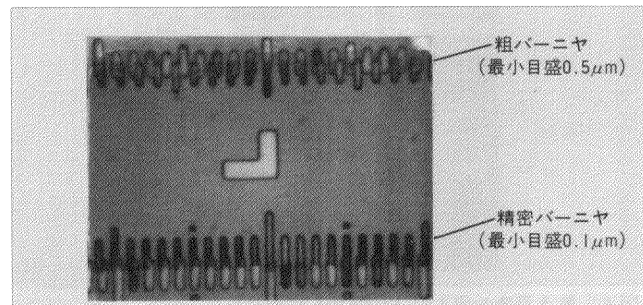


図6 重ね合せ誤差チェック用バーニア

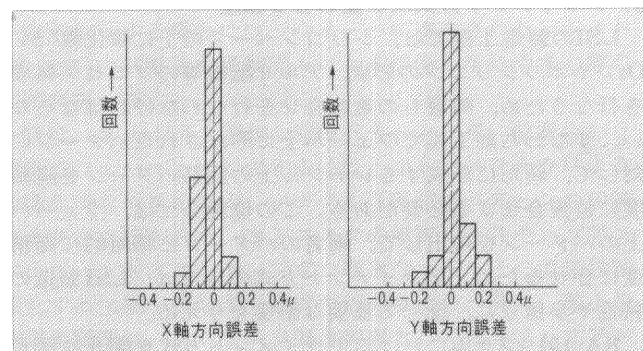


図7 重ね合せ誤差分布の例

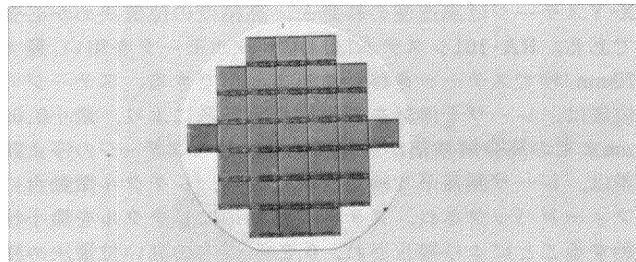


図8 MOS形固体撮像素子,チップサイズ10mm×8.5mm絵素数485×384

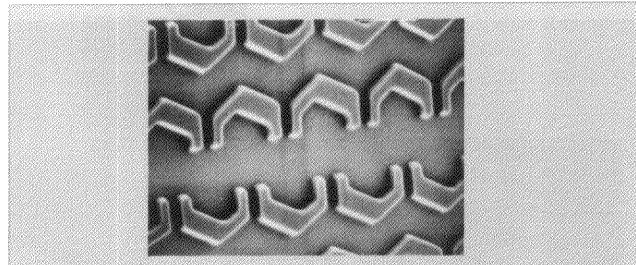


図9 磁気バブルメモリ素子, 最小線幅 $1\mu\text{m}$, 最小ギャップ $1\mu\text{m}$

6. デバイスへの応用

以上のようにRA-101システムの特長として、高解像度と重ね合せ精度があげられるが、実用上さらに重要なことは、従来のコンタクトアライナ及び1:1プロジェクションアライナにくらべて、歩留りが極めて良いということである。すなわち、レチクル上に欠陥、ゴミ等があっても、ウェーハ上では $1/10$ に縮小されるため、たとえば $5\mu\text{m}$ のゴミがレチクル上にあってもウェーハ上では、 $0.5\mu\text{m}$ となり、解像限界以下となるため欠陥パターンとして結像されることがほとんどなくなるということである。

又、プロセス毎の露光条件を決定する場合、同一ウェーハ上でステップアンドリピートする度に、露光時間をかえて露光できるためレジスト厚さや現像時間等の条件を同一にして、各露光の評価ができるため、露光条件の割出しが容易である。

スループットは、高速X-Yステージの使用と、ハイパワー照明系の採用により3インチウェーハの場合、第一露光(アライメントなし)で約1分、重ね合せ露光(1ウェーハアライメントあり)で約1分40秒であり、1時間当たり40~60枚の処理能力を有する。

これらの特長をもったRA-101システムを使用して、固体撮像素子メモリ等の製品が開発されている。実用例として図8, 9にMOS形固体撮像素子及び磁気バブルメモリ素子について示す。

＜編集後記＞

- 本号の報文では、京都大学の北村、森本先生に、H-700HAEMによる鉱物試料の微小部の定量分析について報告して頂きました。
- 本号の報文では、岩手大学の若尾先生に、H-500 トータルシステムによる、糸状菌フオスファターゼ中の反応生成物の分析について報告して頂きました。
- 本号の報文では、八巻、福田先生に、自記分光光度計に温度可変固体反射付属装置を装着して、銅(II)ジアミン錯体のサーモクロ

ミズムを測定した例を報告して頂きました。

- 本号の報文では、東北大学の奥田先生に、パーティクルロータを用いた密度勾配遠心法による大腸菌細胞の分離調製について報告して頂きました。

本NEWSに関するお問合せは、下記へご連絡ください。

日製産業株式会社 マーケティング部
東京都港区虎ノ門1丁目26番5号 第17森ビル
〒150 電話 ダイアルイン 東京(03)504-7211

THE HITACHI
SCIENTIFIC INSTRUMENT NEWS
SPRING 1981 Vol.24 No.1

発行 昭和56年4月1日
(年4回 発行)

発行人 湯川 清
編集人 中嶋康雄 岩井孝之
発行者 株式会社 日立製作所 計測器事業部
〒105 東京都港区虎ノ門1丁目26番5号第17森ビル
電話ダイアルイン 東京(03)504-7866
印刷所 日立印刷株式会社